

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene der
Veterinärmedizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin

Direktor: Prof. Dr. H.J. Sinell

"Der Keimgehalt der West-Berliner Trinkmilch
vor und nach der zweiten Pasteurisierung"

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Rudolf Stephan
Dipl.Ldw. u. Tierarzt
aus Wiesa b. Kamenz

Berlin 1969
Journal-Nr. 681

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene der
Veterinärmedizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin

Direktor: Prof. Dr. H.J. Sinell

"Der Keimgehalt der West-Berliner Trinkmilch
vor und nach der zweiten Pasteurisierung"

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Rudolf Stephan
Dipl.Ldw. u. Tierarzt
aus Wiesa b. Kamenz

Berlin 1969
Journal-Nr. 681

Gedruckt mit Genehmigung der
Veterinärmedizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin



Dekan: Prof. Dr. K. Bronsch
Referent: Prof. Dr. H.J. Sinell
Korreferent: Prof. Dr. Dr. h.c. M. Lerche
Tag der Promotion: 9. Juli 1969

Inhaltsübersicht

	Seite
1. E i n l e i t u n g	1
2. L i t e r a t u r ü b e r s i c h t	2
2.1 Gesamtkeimzahl	2
2.2 Psychrotrophe	5
2.3 Proteolyten	6
2.4 Lipolyten	8
2.5 Coliforme	10
2.6 Staphylokokken	12
3. E i g e n e U n t e r s u c h u n g e n	14
Material und Methode	
A) Probenentnahme	14
B) Bakteriologische Untersuchung	15
1. Gesamtkeimgehalt	16
2. Psychrotrophe	16
3. Caseolyten	16
4. Lipolyten	16
5. Coliforme	16
6. Staphylokokken	17
4. E r g e b n i s s e	18
5. D i s k u s s i o n	35
Schlußfolgerungen	40
6. Z u s a m m e n f a s s u n g	41
L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s	42



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. E i n l e i t u n g

Mehr als 90 % der West-Berliner Trinkmilch werden von Molkeereien aus Schleswig-Holstein, Niedersachsen, Hessen und Niederbayern bezogen. Die Milch wird dort kurzzeiterhitzt ($+71$ bis $+74^{\circ}\text{C}$). Der Transport nach Berlin erfolgt in Kühltankwagen im Verlaufe des Tages auf dem Landwege. In den Abend- und den frühen Nachtstunden erreichen die Transportfahrzeuge die hiesigen Molkereien. Während des Transportes beträgt die Milchttemperatur $+6$ bis $+8^{\circ}\text{C}$. Nach der Ankunft in Berlin wird die Milch in Sammelbehälter gepumpt und während der Nacht zum zweiten Male kurzzeiterhitzt. Danach erfolgt eine Abfüllung in verkaufsfertige Behältnisse (Tüten oder Flaschen) oder eine Verarbeitung zu Milchprodukten.

Für die Eignung der Milch als Lebensmittel ist weniger der Gesamtkeimgehalt als vielmehr die Anwesenheit bestimmter Keimgruppen entscheidend. Besondere Bedeutung besitzen proteolytische und lipolytische Keime, die zur Verderbnis der Milch führen. Dabei ist zu beachten, daß sich verschiedene Keimarten auch bei niedrigen Temperaturen vermehren können. Die Qualität der Milch kann deshalb auch bei niedrigen Aufbewahrungstemperaturen durch die Tätigkeit psychrotoleranter Mikroorganismen beeinträchtigt werden.

Mit dieser Arbeit wird das Ziel verfolgt, einen Überblick über die bakteriologische Beschaffenheit der in West-Berlin angelieferten Milch und den Einfluß der doppelten Pasteurisierung auf die Qualität der West-Berliner Trinkmilch zu erhalten.

2. L i t e r a t u r ü b e r s i c h t

2.1 Gesamtkeimzahl

Bedeutung des Keimgehaltes für die Milch

Die Verderbnis der Milch wird hauptsächlich durch Bakterien verursacht. Die Milch wird im Euter, bei der Gewinnung und Behandlung, beim Transport und während der molkereitechnischen Bearbeitung vielfach mikrobiell kontaminiert (55). Sie ist für viele Bakterien ein idealer Nährboden (9). Die Verderbnis besteht nicht nur in einer Spaltung des Milchzuckers, sondern auch von Milcheiweiß und Milchfett (104). Die Qualität der Milch wird einmal durch die Ermittlung des Bakteriengehaltes bestimmt und zum anderen durch Messung der von den Bakterien gebildeten Spaltprodukte des Milchzuckers, des Milcheiweißes und des Milchfettes. Hierbei läßt sich der Umfang der Säuerung durch die Ermittlung des Säuregrades sehr einfach feststellen. Dagegen ist die Messung der Spaltprodukte des Eiweißes und des Fettes mit einfachen Hilfsmitteln nicht möglich.

In vielen Staaten wurden für die Beurteilung der Milch mikrobiologische Normen geschaffen.

Diese Normen umfassen:

1. Verfahrensnormen für
 - a) den Nährboden und seine Zusammensetzung,
 - b) die Bebrütungstemperatur und -dauer.
2. Gütenormen für
 - a) den höchstzulässigen Gehalt an Keimen.

Am häufigsten existieren Verfahrensnormen und Gütenormen für den Gesamtkeimgehalt, aber auch für coliforme Keime und obligat pathogene Mikroorganismen wie Salmonellen, Brucellen und Tuberkelbakterien sind sie zahlreich vorhanden.

Verfahrensnormen gibt es auch für Proteolyten, Psychrotrophe, Thermophile, Thermoresistente, Clostridien, Lipolyten und fakultativ pathogene Keime wie koagulasepositive Staphylokokken und Streptokokken (Gruppe B und D).

Seltener vorhanden sind Gütenormen für Proteolyten, Thermo-resistente, Clostridien, koagulasepositive Staphylokokken und Streptokokken (65).

Der Gesamtkeimgehalt gilt als Indikator für Frischezustand, Haltbarkeit und Bearbeitungsfähigkeit der Milch (67, 109). Er wird sogar als eines der wichtigsten Qualitätskriterien für die Milch betrachtet (67). Die Methoden zur Erfassung aller in der Milch befindlichen Keime sind immer wieder verbessert worden (67, 109). Das Verfahren zur Bestimmung der Gesamtkeimzahl schließt aber eine Ermittlung spezifischer Eigenschaften und Temperaturansprüche einzelner Mikroorganismengruppen aus.

Wie wichtig die Kenntnis der Eigenschaften der Keime in der Milch ist, haben schon sehr alte Arbeiten gezeigt. 1899 von der Gesundheitsverwaltung in Kopenhagen durchgeführte Untersuchungen haben ergeben, daß von 142 Proben pasteurisierter Milch 98 Proben ebensolche Keimzahlen wie 9 geprüfte Rohmilchproben aufwiesen (100000 bis 10 Mill.). Die Hauptmenge der Bakterien in roher Milch bestand aber aus Milchsäurebakterien, während die pasteurisierte Milch hauptsächlich Fäulnisbakterien enthielt (50).

Eine niedrige Gesamtkeimzahl ist aber keineswegs eine Garantie für eine einwandfreie Beschaffenheit der Milch. Milch mit einem niedrigen Gesamtkeimgehalt, in dem aber vermutlich der überwiegende Anteil aus Staphylokokken bestand, ist die Ursache von Lebensmittelvergiftungen gewesen (3).

Einfluß der Erhitzung auf die Gesamtkeimzahl

Die Bakterienflora der Milch ist eine Mischflora. Die Absterberate einer komplexen Mischflora verläuft anders als bei reinen Bakterienstämmen (52). Jede Milcherhitzung führt nicht nur zu einer Keimabtötung, sondern auch zu einer Selektierung der in der Anlieferungsmilch vorhandenen hitzeresistenten Keimarten (39). Der Pasteurisierungseffekt hängt deshalb ganz von der Menge

der in der Anlieferungsmilch vorhandenen hitzeresistenten Bakterien ab (39, 52). Ganz im Gegensatz dazu steht die vereinzelt vertretene Meinung, daß sich die Keimflora der pasteurisierten Milch wie die der Rohmilch zusammensetzt (10).

Als hitzeresistente Keime, welche die Kurzzeiterhitzung überleben können, sind im allgemeinen folgende Keimarten anzusehen: Aerobe Sporenbildner, Mikrobakterien, Mikrokokken, *Str.thermophilus* und fäkale Streptokokken (33).

Mit Sicherheit sollen durch die anerkannten Pasteurisierungsverfahren alle vegetativen Keime in der Milch abgetötet werden die beim Menschen Erkrankungen und Epidemien hervorrufen können (56).

Gesamtkeimzahl in verkaufsfertigen Behältnissen

Ausgedehnte Stufenkontrollen in verschiedenen Molkereien haben gezeigt, daß die Milch auf dem Wege vom Erhitzer bis zur Abfüllung in verkaufsfertige Behältnisse reinfiziert wird (71, 87, 90, 110, 115). Eine Reinfektion könnte praktisch nur vermieden werden, wenn die Pasteurisierung in den verschlossenen verkaufsfertigen Behältnissen erfolgt (87). Das Ausmaß der Reinfektion wird vom Zustand der technischen Anlagen beeinflußt, sowie vom Material, aus dem diese hergestellt sind. Die Kontamination kann schon in der Rohrleitung vom Erhitzer zum Kühler beginnen (115). Grundsätzlich können alle Rohrleitungen, Kühlanlagen, Sammelbehälter, Tankfahrzeuge, Abfüllmaschinen, die Luft, Kannen und die Milchflaschen die Milch reinfizieren, d.h. alle Gegenstände, mit denen die Milch in Berührung kommt (30, 64, 71, 86, 87, 90, 115). Besondere Reinfektionsquellen sind oberflächliche Rauigkeiten und Sprünge in den Rohren. Dort verbleiben Milchreste, die zur Brutstätte von Bakterien werden (115). Ausgangspunkte sind auch kniereiche Rohrleitungen (90) und Schläuche (71). Zudem besitzen milchverarbeitende Betriebe eine hauseigene, oft spezifische Flora. So wurden in der Luft eines Molkereibetriebes oft Keime der Gruppen *Str. cremoris*, *Coli-Aerogenes* und *Pseudomonas* nachgewiesen (87), in der Luft von Käsereien befanden sich Laktobazillen (86).

Die Rohrleitungen, Kühlrippen und Sammelbehälter enthielten nicht selten Colikeime (71, 90, 115) und Kokken (71). In den Abfüllmaschinen reicherten sich zuweilen Bazillen an (87).

Die Kontaminationsflora kann also aus aeroben Sporenbildnern, *Str. lactis* (87), Laktobazillen (86) und aus gramnegativen Keimen wie *Coli*-, *Achromobacter*- und *Pseudomonas*arten bestehen (71, 87, 90, 115). Sie setzt sich dabei überwiegend aus schnellwüchsigen Mikroorganismen zusammen. Langsam wachsende Keime sind, mit Ausnahme der aeroben Sporenbildner, die hitzeresistenten Mikroorganismen, die die Milch erst im Verlaufe mehrerer Tage beeinflussen (39).

Die Aufbewahrungstemperatur ist von großer Bedeutung für die Entwicklung der Keimflora in den verkaufsfertigen Behältnissen. Erfolgt eine Kühlung unter $+8^{\circ}\text{C}$, können die hitzeresistenten Keime sich kaum vermehren (20). Dagegen zeigen die Gramnegativen, wie *Aerogenes*- und *Pseudomonas*arten bei niedrigen Temperaturen ausreichendes Wachstum (87).

2.2 Psychrotropie

Für die Keime, die zwischen 0°C und $+5^{\circ}\text{C}$ zu wachsen vermögen, gibt es keine einheitliche Bezeichnung (43, 53). In der vorliegenden Arbeit soll, dem Vorschlag von E D D Y (25) folgend, für alle Keime, die bei 5°C und darunter zu wachsen vermögen, der von M O S S E L vorgeschlagene Name "Psychrotroph" benutzt werden.

Bedeutung der Psychrotropie für die Milch

Schon 1903 stellte B I S C H O F F fest, daß die Keimzahlen in Milch bei einer Aufbewahrung zwischen $+0,6^{\circ}\text{C}$ und $+2^{\circ}\text{C}$ nach 3 bis 4 Tagen stiegen. Im gleichen Jahr fanden C O N N und E S T E N, daß bei $+1^{\circ}\text{C}$ die Keimzahl zunächst abnahm, aber nach 6 bis 8 Tagen ein anhaltendes Wachstum stattfand. Selbst bei einer Temperatur von etwas unter 0°C konnten bei einem Ausgangskeimgehalt von $3 \times 10^2/\text{ml}$ nach 5 bis 6 Wochen über 10^8 Keime /ml nachgewiesen werden. In einem anderen Fall war bei einer Aufbewahrungstemperatur von -1°C bereits nach 20 Tagen

eine starke Zunahme zu verzeichnen (84). Bei Kühlagerung der Milch können sich psychrotrophe Keime ungehindert vermehren, wobei sie durch Säurebildner nicht gehindert werden (43, 73, 85, 106, 121) und dadurch die Milch verderben (7, 12, 45, 62, 72, 82, 103). Psychrotrophe Bakterien beeinträchtigen die Milchqualität, weil sie häufig peptonisierende (1, 17, 24, 62, 66, 73, 82, 111) und auch lipolytische (24, 41, 66, 111) Eigenschaften besitzen.

Einfluß der Erhitzung auf die Psychrotrophen

Nach K U N T Z E (1908) war es nichts Seltenes, daß sich pasteurisierte Milch bei Aufbewahrung im Eisschrank geschmacklich noch nach einem Monat als tadellos erwies. Die Ursache sah er in der fast völligen Vernichtung der "psychrotoleranten" Fäulnisbakterien durch die "Schwachpasteurisierung" (63). Die psychrotrophen Bakterien überlebten bei anderen Versuchen die Dauer- (111) oder die Kurzzeiterhitzung (96, 114) überhaupt nicht oder nur in sehr geringem Maße (108). Wurden dagegen psychrotrophe Bakterien gesondert angezüchtet, in Milch gebracht und anschließend dauer- oder kurzzeiterhitzt, dann überlebte zuweilen ein gewisser Prozentsatz die Erhitzung (31, 54). Es zeigte sich dabei eine Abhängigkeit von der Höhe der Ausgangskeimzahl und des Stammes (58).

Psychrotrophe in verkaufsfertigen Behältnissen

In verkaufsfertigen Behältnissen wurden häufig Psychrotrophe gefunden (12, 45, 106, 114). Als Ursache ermittelten verschiedene Autoren eine Re-Kontamination (80, 106, 110, 116).

2.3 Proteolyten

Bedeutung der Proteolyten für die Milch

In der Milch sind die proteolytischen Fermente bakteriellen Ursprungs von vorrangiger Bedeutung (95). Durch sie werden vorwiegend alkalische Abbauprodukte gebildet. Das Casein wird ähnlich wie bei der Labgewinnung zunächst ausgefällt und dann sogar aufgelöst (104). Die Geschmacksprobe gibt

einen Hinweis für eine durch Proteolyten verursachte Verderbnis. Diese kann durch eine Geruchprobe unterstützt werden. Eine solche Milch schmeckt widerlich säuerlich, kratzend bitter mitunter aber auch fad (46). Die Säure ist deutlich zu unterscheiden von der durch Milchsäure veränderten Milch. Für das Schicksal der Milch besitzen die Mikroorganismen die größte Bedeutung, die in Milch gut wachsen und schnell stark wirksame proteolytische Fermente bilden können (60).

KRAUS faßte die Ergebnisse zahlreicher Autoren zusammen und rechnete folgende Mikroorganismen zu den bedeutsamsten Proteolyten in Rohmilch:

1) Nichtsporenbildende Proteolyten:

Pseudomonas aeruginosa und andere psychrotolerante gramnegative Stäbchenbakterien,
Proteus vulgaris und *Serratia marcescens*,
acidoproteolytische Kokken (*M.caseolyticus*, *Str.liquefaciens*).

2) Sporenbildende Proteolyten:

Aerobe Sporenbildner (*B.subtilis*, *B.cereus*, *B.megaterium* u.a.), anaerobe Sporenbildner (*Cl.sporogenes*, *Cl.bifermintans*, *Cl.histolyticum* u.a.) (60).

Nach den Erhebungen verschiedener Autoren finden sich in der Milch immer proteolytische Mikroorganismen (21, 46, 60, 70). Deren Zahl kann allerdings sehr schwanken. In welchem Ausmaß sich die Proteolyten vermehren können, ist abhängig von der Aufbewahrungstemperatur und von der Zusammensetzung der übrigen Flora. Wird die Milch bei +5°C aufbewahrt, dann können sich die Säurebildner nicht nennenswert vermehren und die psychrotrophen, gramnegativen, stäbchenförmigen Proteolyten gewinnen die Oberhand (43, 73, 85, 106, 121). Diese Verderbnisursache wurde von vielen Autoren festgestellt (7, 12, 45, 62, 72, 82, 103). Findet eine Aufbewahrung bei Zimmertemperatur statt, dann werden die in roher Milch vorhandenen Proteolyten infolge der durch andere Keime bewirkten Säuerung innerhalb von 3 Tagen erheblich reduziert (46).

Zur Identifizierung der Proteolyten benutzt man besondere Nährböden. Auf Caseinnährböden z.B. sind die verursachten proteolytischen Vorgänge innerhalb von 1 - 3 Tagen nachzu-

weisen. Der Abbau des Caseins wird dabei durch Aufhellungszonen des an sich opaken Nährbodens rund um die Kolonien sichtbar (46, 61).

Einfluß der Erhitzung auf die Proteolyten

Mit der Pasteurisierung findet eine Keimauslese statt. Bei Anwendung der vorgeschriebenen Erhitzungsverfahren überleben von den Proteolyten hauptsächlich Sporenbildner und Mikrokokken (60). Ihre Anzahl ist jedoch gering (46, 123). Da die Säurebildner durch die Kurzzeiterhitzung weitgehend oder völlig vernichtet werden, erhalten auch kleine Mengen proteolytischer Keime eine besondere Bedeutung. Diese können sich bei Zimmertemperatur sehr rasch vermehren, so daß die Milch schon innerhalb 48 Std. völlig verderben kann (21, 35, 44, 46, 49).

Proteolyten in verkaufsfertigen Behältnissen

Außer den hitzeresistenten proteolytischen Keimen, die die Pasteurisierung überleben, wurden in verkaufsfertigen Behältnissen oft noch proteolytische gramnegative Stäbchen, hauptsächlich aus der Pseudomonasgruppe, gefunden. Diese gelangten durch Kontaminierung in die Milch (60).

2.4 Lipolyten

Die meisten Bakterien scheinen die Fähigkeit zu besitzen, unter günstigen Bedingungen zumindest eine geringe Menge extrazellulärer Lipase zu bilden. Das Lipasebildungsvermögen kann zwischen zwei Stämmen einer Species beträchtlich schwanken. Zum oxydativen Fettabbau sind außer Pilzen auch bestimmte Bakterien, vor allem Vertreter der Gattungen Pseudomonas und Achromobacter, in der Lage (23).

Für das Studium der Verderbnis von fetthaltigen Lebensmitteln ist die Ermittlung der lipolytischen Mikroorganismen von großer Bedeutung. Zum Nachweis der Lipolyten gibt es zahlreiche Methoden (23, 68, 100). Die Grundmethode besteht darin, daß Fett oder ein anderer Fettsäureester in einem Nährsubstrat emulgiert werden. Die Fettspaltung ist dann an einer Aufhellung des undurchsichtigen Nährbodens zu erkennen. Da die natürlichen Fette durch die Fettspaltung wenig transparent werden, ist es ratsam, die Fettspaltung durch Farbindikatoren

sichtbar zu machen. Diese Indikatoren wechseln bei pH-Wert-Änderung, die durch das Freiwerden der Fettsäure infolge der Fettspaltung eintritt, ihre Farbe. Durch diese Farbindikatoren können allerdings grampositive Bakterien gehemmt werden (23, 68). R A T H hat deshalb versucht, das Problem der Farboxitoxität dadurch zu lösen, daß er die Mikroorganismen auf einen Nähragar 3 Tage bei 30°C bebrütet, anschließend viktoriablaues Fett überschichtet und danach 3 - 6 Tage bebrütet (92). Diese Methode wird als sehr genau anerkannt (68, 100), aber sie ist sehr aufwendig, und die Kolonien lassen sich nicht ohne weiteres zur Weiterzüchtung verwenden.

Sehr einfach in der Anwendung ist die Tributyrin-Methode nach Anderson (5). Das in das Nährmedium emulgierte Tributyrin macht den Nährboden undurchsichtig. Bei einer Spaltung des Tributyrins wird das Medium durchsichtig. Die Verwendung von Tributyrin macht keinen Farbindikator erforderlich und außerdem besitzt es, im Gegensatz zu den natürlichen Fetten, eine konstante Zusammensetzung. Tributyrin-Spaltung wird eher nachgewiesen als die Spaltung natürlicher Fette (4, 28, 36, 38, 51, 100). Die Tributyrin-Methode wird deshalb oft als Suchmethode gewertet.

Bedeutung der Lipolyten für die Milch

Originäre Lipasen erlangen in der Milch selten Bedeutung, weil sie nur in geringen Mengen oder gar nicht vorkommen (104). Außerdem werden sie durch die Pasteurisierung zerstört (23, 104).

Die Bedeutung lipolytischer Mikroorganismen für die Verderbnis von Milchprodukten ist schon früh erkannt worden. O R L A - J E N S E N hat 1902 in einer grundlegenden Arbeit gezeigt, daß aerobe Sporenbildner und andere Mikroorganismen das Ranzigwerden der Butter verursachen (48). Dagegen wird den Lipolyten für die Verderbnis der Trinkmilch weniger Bedeutung beigemessen. Nur bei längerer Kühlagerung der Milch konnten psychrotrophe gramnegative Stäbchen eine lipolytische Verderbnis verursachen (41, 77, 81, 120). In roher Milch wird auch Staphylokokken und Mikrokokken in dieser Beziehung eine Bedeutung

zuerkannt (51). Interessant ist die Mitteilung von P I R A U X und A N T O I N E, wonach 85 % der von ihnen untersuchten caseolytischen Bakterien auch lipolytische Aktivität zeigten (88). Dasselbe hat N I S S E N für Rosahefen (77) und M I K L I K für Rhodotorula festgestellt (75). P I R A U X und A N T O I N E nennen diesen Tatbestand eine durch Caseolyse "maskierte Lipolyse".

Nach Demeter (23) besitzen folgende Keimarten ein ausgezeichnetes Fettspaltungsvermögen:

1. gramnegative proteolytische und alkalisierende Kurzstäbchen (Pseudomonas, Achromobacter, Serratia, Flavobakterien und Alcaligenes).
2. Mikrokokken
3. aerobe Sporenbildner
4. hitzeresistente Corynebakterien
5. gewisse Hefearten (Rhodotorula, Candida, Geotricha)
6. Schimmelpilze (Oospora, Penicillium, Cladosporium)

Von diesen Keimgruppen kommen in der Trinkmilch hauptsächlich gramnegative Stäbchen, aerobe Sporenbildner, Mikrokokken und Corynebakterien vor. Diese Mikroorganismen gehören im wesentlichen zu denselben Keimgruppen, die auch eine starke Proteolyse verursachen. Sie können daher auch unter den gleichen Bedingungen wie die Proteolyten Bedeutung erlangen.

Einfluß der Erhitzung auf die Lipolyten

Die Kurzzeiterhitzung überleben von den in der Milch vorkommenden Lipolyten aerobe Sporenbildner, Mikrokokken und Corynebakterien (23).

Lipolyten in verkaufsfertigen Behältnissen

In verkaufsfertigen Behältnissen wurden außer den Keimen, die die Kurzzeiterhitzung überleben, wieder gramnegative Stäbchen gefunden (41, 77, 81, 120).

1.7 Coliforme

Coliforme Keime werden seit mehr als 50 Jahren als Indikator für die hygienische Beschaffenheit der Milch benutzt (13). In der Literatur gibt es für den Begriff "coliform" keine völlig

einheitliche Definition. Man unterscheidet zwischen Coliformen im "engeren" Sinne und Coliformen im "weiteren" Sinne. Zu den ersteren rechnet man die Mikroorganismen der Genera *Escherichia* und *Enterobacter*, die aus Laktose Säure und Gas bilden. Als Coliforme im weiteren Sinne werden neben *Escherichia* und *Enterobacter* sogar Nichtenterobacteriaceen wie Fluorescenten und Alkalibildner gezählt (102). Der Internationale Milchwirtschaftsverband rechnet zu den "Coliformen" aerobe und anaerobe gramnegative stäbchenförmige Bakterien, die keine Sporen bilden und bei etwa 30 bis 38°C in Gegenwart von Galle-salzen unter Säure- und Gasbildung Laktose vergären (47). Coliforme Keime kommen zwar auch regelmäßig im Kot vor, sind aber auch sonst sehr weit verbreitet. Als Indikator für eine fäkale Verunreinigung können sie daher nur mit Einschränkung gelten. Coliforme Keime kommen in roher Milch sehr häufig vor. Sie sind in geringem Maße zur Proteolyse fähig, wodurch sie die Qualität der Milch herabsetzen können (104).

Einfluß der Erhitzung auf die Coliformen

Durch die Kurzzeiterhitzung werden die normalerweise in Milch vorkommenden coliformen Keime vernichtet (8, 22, 119). Wurden diese Mikroorganismen jedoch experimentell vermehrt und auf ihre Hitzeempfindlichkeit geprüft, dann überlebte ein Teil dieser Keime die Pasteurisierungstemperatur (6, 22). Aus diesem Grunde werden in Deutschland coliforme Keime schon seit den Zwanziger Jahren nicht mehr als Testkeime für die Erprobung von Erhitzerapparaten für die Milchpasteurisierung benutzt (22).

Coliforme Mikroorganismen werden nicht selten in verkaufsfertigen Behältnissen gefunden. Da sie durch eine ordnungsgemäße Pasteurisierung vernichtet werden, zeigt ihre Anwesenheit eine Reinfektion an (119).

2.6 Staphylokokken

Bedeutung der Staphylokokken in der Milch

Das Vorkommen der Staphylokokken in der Rohmilch ist nichts Außergewöhnliches, da sie zur Umweltflora der Milchtiere gehören (78). Staphylokokken gehören zur normalen Hautflora der Säugetiere und können auch im Zitzenkanal und im gesunden Euter vorkommen (93). Die Häufigkeit, mit der Staphylokokken nachgewiesen werden, ist unterschiedlich, und das Vorkommen ist weitgehend abhängig von der hygienischen Gewinnung der Milch (40). Koagulasepositive Staphylokokken wurden in Rohmilch zwischen 10 und 30 % (78), über 50 % und bis 80 % (16) der geprüften Milchproben nachgewiesen. Für die hygienische Beurteilung dieser Staphylokokken gibt es aber kein zuverlässiges Kriterium (2, 78, 79). Saprophytische Staphylokokken aus der Milch waren von pathogenen Staphylokokken aus dem Euter und von menschlichen Krankheitsfällen nicht zu unterscheiden (78). Die Gefahr, die von Staphylokokken in der Milch ausgeht, besteht darin, daß es unter ihnen Enterotoxinbildner gibt. Enterotoxinbildende Staphylokokken in der Milch sind verschiedentlich die Ursache von Lebensmittelvergiftungen gewesen (15, 101, 117, 122). Enterotoxinbildende Staphylokokken wurden in 15 % der Milchproben mit Hilfe des Katzentestes (Dolman-Test) ermittelt (78). Es gibt kein sicheres diagnostisches Kriterium für die Pathogenität eines Staphylokokkenstammes (2, 78, 79). Die sicherste Methode ist der Nachweis der Koagulase, wobei gleichzeitig das Koagulasebildungsvermögen weitgehend mit der Enterotoxinbildung übereinstimmen soll (42). Allerdings bilden nicht alle koagulasepositiven Staphylokokken Enterotoxin (34) und auch koagulasenegative Staphylokokken können Enterotoxin bilden (32).

Von 45 Mastitis-Stämmen erwiesen sich 14 sicher als enterotoxinbildend (122). Die Auslösung einer Lebensmittelvergiftung setzt nach der Meinung von A B O - E L N A G A und K A N D - L E R eine Massenvermehrung der Enterotoxinbildner voraus (2). Wurde z.B. die Milch bei 4°C aufbewahrt, dann trat innerhalb von 7 Tagen keine signifikante Vermehrung auf (16) oder

die Zahl nahm sogar ab (3). Erfolgte eine Aufbewahrung bei 10°C , war die Vermehrung auch nicht drastisch (3), aber es fand zumindest eine Verdoppelung statt, und es wurde im Extrem der tausendfache Wert oder 360.000/ml erreicht. Die Vermehrungsquote schwankte von Probe zu Probe (16). Die Vermehrungsrate anderer Bakterien war dagegen in Rohmilch bei 10° und 15°C wesentlich höher, so daß durch sie die Staphylokokken unterdrückt wurden und die Milch gerann (3) oder verdarb (16), ehe die Staphylokokken ein Ausmaß erreichten, das eine Lebensmittelvergiftung hätte verursachen können (3, 16).

Möglicherweise kann es bei einem hohen Anfangskeimgehalt von Staphylokokken in einer sonst keimarmen Milch und ohne Kühlung zu einer Massenvermehrung der Staphylokokken kommen (3). Unter diesen Voraussetzungen erreichten die Staphylokokken Werte, die zu einer Lebensmittelvergiftung führen, wie sie von verschiedenen Autoren (15, 101, 117) beschrieben wurden.

Einfluß der Erhitzung auf die Staphylokokken

Durch die Kurzzeiterhitzung wurden die üblicherweise in Milch vorhandenen koagulasepositiven Staphylokokken vernichtet (2, 3). Wurden Staphylokokken experimentell in Bouillon vermehrt und auf ihre Hitzeresistenz geprüft, dann überlebte mehr als die Hälfte der Stämme die Pasteurisierungstemperatur, wobei sie die kulturell feststellbaren pathogenen Eigenschaften behielten (33). Einige Mastitisstämme behielten ihr Enterotoxinbildungsvermögen noch nach einer 20 Minuten dauernden Erhitzung auf 100°C (122).

Über koagulasepositive Staphylokokken in verkaufsfertigen Behältnissen waren keine Angaben in der Literatur zu finden.

3. Eigene Untersuchungen

Material und Methode

A) Probenentnahme

Die Untersuchungen erfolgten von Mai 1966 bis März 1967. Insgesamt wurden 100 Proben Anlieferungsmilch (I), 100 Proben unmittelbar nach dem Passieren des Erhitzers entnommene Milch (II) und 100 Proben Milch aus verkaufsfertigen Behältnissen (1/2- und 1-Literflaschen; III) untersucht.

Bei der Anlieferungsmilch (I) handelte es sich um eine kurzzeiterhitzte Milch, in der die alkalische Phosphatase niemals nachgewiesen werden konnte. Sie wurde in Tankwagen auf dem Landwege aus Molkereien von Schleswig-Holstein, Niedersachsen, Hessen und Bayern nach Berlin gebracht. Die Temperatur der Milch betrug während des Transportes etwa $+6^{\circ}$ bis $+8^{\circ}\text{C}$. Nach Erreichen der Meierei in Berlin wurde die Milch in ca. 10.000 Liter fassende Tanks gepumpt und danach erneut kurzzeiterhitzt ($+71^{\circ}$ bis $+74^{\circ}\text{C}$). Die Zwischenlagerung der Milch in stationären Tanks war für einen kontinuierlichen Betriebsablauf in der Meierei notwendig. Die ersten Tankwagen erreichten gegen 21 Uhr Berlin. Mit der Kurzzeiterhitzung wurde gegen 22 Uhr begonnen. Die erste Probe wurde frühestens 20 Minuten nach Beginn der Kurzzeiterhitzung entnommen.

Die Entnahme der Proben wurde so durchgeführt, daß ein direkter Vergleich der Untersuchungsergebnisse von Milch I und Milch II möglich war. Die Entnahme der Anlieferungsmilch I erfolgte aus dem Sammelbehälter kurz vor dem Erhitzer. Wegen der vorhin genannten Zwischenlagerung war es nicht möglich, die Herkunft (Tankwagen) der an dieser Stelle entnommenen Milch zu bestimmen. Etwa eine Minute nach Entnahme der Anlieferungsmilch wurde die nächste Probe (II) direkt nach Durchlaufen des Erhitzers aus dem für diese Zwecke vorgesehenen Probehahn entnommen. Vor der Entnahme wurde dieser Probehahn abgeflammt und nach Auslauf von ca. 20 Litern Milch die Probe entnommen. Im Untersuchungszeitraum betrug die Pasteurisierungstemperatur $+73^{\circ}$ bis $+74^{\circ}\text{C}$.

Sofort nach der Entnahme der Proben von Milch I und II wurden diese in Eiswasser abgekühlt und in den Kühlschrank gestellt.

Die verkaufsfertigen Behaltnisse (Milch III) wurden ebenfalls im Verlaufe der Nacht entnommen und im Kühlschrank aufbewahrt. Im Verlaufe einer Nacht wurden drei Proben entnommen (jeweils drei Proben I, drei Proben II und drei Proben III).

Der Abstand zwischen der Entnahme zweier Proben betrug etwa 45 Minuten. Von der Entnahme in der Meierei bis zur Untersuchung im Institut vergingen ca. 12 bis 14 Stunden. Während dieser Zeit betrug die Aufbewahrungstemperatur etwa $+5^{\circ}\text{C}$. Hiervon ausgenommen ist der Transportweg von der Meierei zum Institut. Der Transport der Proben dauerte etwa 30 bis 40 Minuten.

B) Bakteriologische Untersuchung

Die bakteriologische Untersuchung jeder Milchprobe umfaßte folgende quantitativen Bestimmungen:

1. Gesamtkeimzahl
2. Psychrotrophe
3. Caseolyten
4. Lipolyten
5. Coliforme
6. Staphylokokken.

Die quantitative Bestimmung der Gesamtkeimzahl und der einzelnen Keimgruppen erfolgte im Oberflächenverfahren. Dabei wurde jeweils 0,1 ml aus mehreren Verdünnungsstufen auf je einer Platte ausgespatelt. Zur Errechnung der Keimgruppe pro 1 ml wurden die Kolonien pro Platte gezählt und mit dem jeweiligen Verdünnungsgrad multipliziert. Nach Möglichkeit wurde von Platten benachbarter Verdünnungsstufen das arithmetische Mittel gebildet. Die Keimmengen wurden grundsätzlich pro 1 ml angegeben.

Die erste Verdünnung wurde so durchgeführt, daß pro Platte 0,1 ml Milch ausgespatelt wurde. Die nächsten Verdünnungen erfolgten in Demeterflaschen. Hierbei wurden zunächst 10 ml Milch in 90 ml physiologische Kochsalzlösung gegeben. Zur Herstellung der weiteren Verdünnungsstufen wurden jeweils

10 ml des Gemisches von Milch und physiologischer Kochsalzlösung in 90 ml physiologische Kochsalzlösung pipettiert. Vor dem Pipettieren auf die Nährplatte oder in die nachfolgende Verdünnungsstufe wurde die Milch bzw. das Gemisch von Milch und physiologischer Kochsalzlösung ca. 30 mal geschüttelt. In Vorversuchen war geprüft worden, bis zu welcher Verdünnungsstufe die Milch verdünnt werden mußte.

1. Gesamtkeimzahl

Für die Ermittlung des Gesamtkeimgehaltes in der pasteurisierten Milch ist von der Methodenkommission der Chinablau-Laktose-Fleischextrakt-Agar vorgeschlagen worden (74). In dieser Arbeit wurde Chinablau-Laktose-Fleischextrakt-Agar (Fertignährboden der Fa. Merck) benutzt. Die Bebrütung erfolgte 72 Stunden bei $+30^{\circ}\text{C}$.

2. Psychrotrophe

Zur Bestimmung psychrotropher Bakterien werden oft hefeextrakt-haltige Nährmedien verwendet (65). Nach Voruntersuchungen wurde der Chinablau-Laktose-Fleischextrakt-Agar ausgewählt. Die Platten wurden 14 Tage bei $+5^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt.

3. Caseolyten

Für die Ermittlung der caseolytischen Flora wurde der Calcium-Casein-Pepton-Agar nach SCHÖNBERG und KRAUS verwendet (60). Die Bebrütung erfolgte 48 Stunden bei $+30^{\circ}\text{C}$.

4. Lipolyten

Zum Nachweis der Fettspalter wurde der Tributyrin-Agar nach CORETTI benutzt (19). Die Bebrütung erfolgte 72 Stunden bei $+30^{\circ}\text{C}$.

5. Coliforme

Zur Bestimmung der Coliformen wurde der Violet-Red-Bile-Agar (Fertignährboden der Fa. Oxoid) verwendet. Die Bebrütung erfolgte 18 Stunden bei $+37^{\circ}\text{C}$.

6. Staphylokokken

Zum Nachweis der Staphylokokken wurde ein eigelbhaltiges Medium verwendet, und zwar der KRANEP-Agar (105). Die Bebrütung erfolgte 72 Stunden bei 37°C.

Tabelle 1
Logarithmische Werte der Keimzahlen/ml Milch

Nr.d. Probe	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Gesamtkeimzahl															
I	5,59	5,85	5,76	5,51	5,59	5,60	5,74	5,67	5,66	5,92	5,79	5,83	5,85	5,59	5,75
II	4,46	4,45	4,46	4,88	4,77	4,86	4,61	4,81	4,93	4,92	4,93	4,87	4,81	4,95	4,89
III	5,20	5,20	5,30	4,60	4,92	4,99	4,97	4,72	4,90	4,97	5,00	5,06	5,02	4,85	4,95
Psychrotrophe															
I	5,51	5,58	5,43	5,06	4,88	5,06	5,12	5,52	5,49	5,31	5,20	5,25	5,17	4,95	5,21
II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	1,70	-	2,36	2,08	2,72	2,93	2,73	2,68	2,58	3,16	3,47	2,72	2,66	2,67	2,56
Caseolyten															
I	3,46	3,54	3,58	4,00	3,76	4,04	3,78	3,95	4,04	4,18	4,08	4,08	3,65	3,48	3,48
II	2,42	2,38	2,42	1,78	2,00	2,18	2,20	2,18	2,04	1,00	1,78	1,00	2,08	2,04	2,32
III	2,62	2,74	2,72	1,90	2,28	2,11	2,38	2,42	2,04	2,95	2,30	1,90	2,34	2,43	2,36
Lipolyten															
I	1,70	1,30	1,70	2,20	2,23	2,23	1,85	1,95	1,48	2,42	2,51	2,43	1,85	1,78	1,70
II	1,85	1,85	2,02	1,70	1,30	1,48	1,48	1,30	1,30	1,30	1,60	-	-	-	-
III	1,90	1,95	1,95	1,48	1,00	1,48	1,00	1,70	-	1,60	1,95	1,48	1,78	1,48	1,00
Coliforme															
I	-	2,48	2,20	2,75	2,48	2,99	2,78	2,88	3,00	2,78	2,83	2,85	2,64	2,81	2,73
II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mikrokokken															
I	2,64	3,18	3,11	2,30	2,45	2,71	1,78	1,60	1,48	-	-	-	1,04	1,40	1,43
II	-	1,60	-	1,78	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	-	1,60	1,30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,48	-

4. E r g e b n i s s e

Fortsetzung Tabelle 1

Nr. d.

Probe

	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
									Gesamtkeimzahl						
I	5,45	5,70	5,27	5,94	5,15	5,30	5,04	5,20	5,42	6,18	5,95	5,85	5,76	5,95	5,20
II	4,75	4,61	4,79	4,89	4,70	4,90	4,90	4,62	4,88	4,99	4,90	4,85	4,60	4,72	4,78
III	4,78	4,98	4,85	4,85	4,78	4,85	4,95	5,04	4,95	5,07	5,06	4,98	4,66	4,70	4,90
									Psychrotrophe						
I	4,98	5,08	4,40	5,56	3,95	4,60	4,30	4,40	4,58	5,58	5,38	5,20	4,23	4,28	4,08
II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	1,30	1,60	1,48	3,08	2,53	2,51	2,40	-	2,45	-	1,95	-	1,70	1,78	2,88
									Caseolyten						
I	3,62	3,79	3,42	4,30	3,40	2,85	3,15	3,20	3,28	4,38	4,26	4,04	3,38	3,43	3,58
II	2,20	1,85	2,00	2,08	2,04	2,20	2,00	2,48	2,48	2,60	2,56	2,45	2,18	2,20	2,00
III	2,23	2,95	2,60	2,40	2,30	2,48	2,30	2,48	2,60	2,70	2,66	2,51	2,44	2,46	3,00
									Lipolyten						
I	1,70	1,48	1,78	2,20	1,90	2,00	2,95	2,85	2,60	2,20	1,90	1,95	2,26	2,30	1,78
II	1,60	1,30	1,48	1,48	1,30	1,90	1,60	1,48	1,70	1,90	1,30	1,60	1,00	1,78	1,00
III	1,48	1,60	1,48	2,15	2,08	2,04	1,48	1,48	1,48	2,20	2,43	2,38	2,42	2,20	2,08
									Coliforme						
I	2,72	2,89	2,65	2,79	2,11	1,48	2,26	2,30	2,28	2,48	2,53	2,45	2,62	2,40	2,61
II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
									Mikrokokken						
I	-	-	-	2,08	2,00	1,95	1,48	1,73	1,60	1,70	1,90	1,85	1,43	1,60	-
II	-	-	-	-	-	-	-	1,30	1,30	1,30	-	-	-	-	-
III	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,00	-	-	-	-	-

Nr.d. Probe	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
									Gesamtkeimzahl						
I	6,02	5,32	5,94	4,78	4,70	5,27	5,11	4,90	5,49	5,45	5,15	5,48	5,56	5,37	5,45
II	4,40	4,53	4,46	4,34	4,59	4,48	4,54	4,34	4,81	4,88	4,73	4,90	4,79	4,87	4,96
III	4,27	4,38	4,34	4,58	4,57	4,48	4,40	4,54	4,44	4,81	4,75	4,95	4,86	4,98	4,89
									Psychrotrophe						
I	4,48	4,62	4,48	4,54	4,15	4,51	4,18	4,46	4,66	4,60	4,00	4,70	4,45	4,89	4,52
II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	1,00	1,30	1,30	1,00	1,00	1,85	2,26	1,95	1,48	1,90	1,78	1,95	-	-	-
									Caseolyten						
I	3,26	3,45	3,54	3,23	3,23	3,28	3,42	3,46	3,00	3,56	3,46	3,45	4,11	3,30	3,38
II	1,90	1,95	1,90	1,95	2,00	2,00	1,48	1,48	2,20	2,00	1,95	2,23	1,90	1,70	1,85
III	2,26	2,30	2,26	2,60	2,11	2,30	2,20	2,30	2,23	2,48	2,45	2,30	2,23	2,20	2,26
									Lipolyten						
I	2,70	2,48	2,78	2,00	2,90	2,26	2,20	2,30	2,30	2,26	2,34	2,04	2,60	2,30	2,48
II	1,30	1,00	-	1,30	1,85	1,30	-	1,95	1,30	-	1,30	1,95	-	1,30	1,30
III	1,78	1,85	1,90	1,78	-	2,23	1,30	1,48	-	1,60	1,78	1,70	-	1,48	1,30
									Coliforme						
I	2,26	2,66	2,86	-	-	-	2,08	2,42	1,70	2,20	2,40	2,60	2,48	2,54	2,60
II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	-	-	-	-	1,00	-	1,70	1,30	-	1,78	1,00	-	1,30	-	-
									Mikrokokken						
I	1,00	1,00	1,60	-	-	-	-	-	1,60	2,70	2,65	2,78	2,08	2,54	2,18
II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
	Gesamtkeimzahl														
I	5,66	5,68	5,70	5,72	5,43	5,80	6,28	5,87	5,58	5,52	5,57	5,46	5,00	5,04	5,48
II	4,51	4,58	4,53	4,83	4,66	4,26	4,91	4,85	4,87	4,72	4,78	4,86	4,70	4,78	4,63
III	4,62	4,90	4,78	4,74	4,62	4,79	4,86	5,04	4,81	4,79	4,79	4,89	4,88	4,86	4,95
	Psychrotrophe														
I	4,98	4,90	5,00	5,23	5,08	5,28	5,62	5,38	4,88	4,26	4,30	4,75	4,43	4,23	4,26
II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	1,78	-	1,60	-	-	-	-	-	1,78	1,60	1,30	-	-	-	-
	Caseolyten														
I	3,40	3,26	3,59	4,34	3,88	3,90	4,48	4,34	4,45	3,45	3,49	3,71	3,51	3,30	3,34
II	2,23	2,70	2,78	2,48	2,00	1,48	2,46	2,32	2,48	2,26	2,20	1,90	1,85	1,90	1,90
III	1,95	1,95	2,26	3,03	3,08	2,20	2,38	2,56	2,72	2,20	2,23	2,23	2,26	2,20	2,15
	Lipolyten														
I	2,26	2,23	2,26	2,60	2,45	2,26	2,26	2,48	2,20	2,30	2,38	2,48	2,38	2,38	2,30
II	1,90	1,60	1,78	1,70	1,60	1,60	1,48	1,30	2,20	1,85	1,78	1,70	1,85	2,00	1,90
III	1,60	1,78	1,48	1,78	1,70	1,60	1,48	1,78	1,85	1,85	2,45	2,36	2,30	2,20	2,08
	Coliforme														
I	1,60	2,40	2,56	3,08	2,30	3,40	3,98	3,63	2,42	2,26	2,30	2,42	2,04	2,00	2,26
II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	-	-	2,26	-	-	-	-	-	1,60	-	-	-	-	-	-
	Mikrokokken														
I	2,08	2,00	2,20	2,65	2,56	2,86	2,04	1,48	1,60	1,85	1,90	-	1,60	1,70	1,78
II	-	-	-	1,48	-	-	-	-	-	-	-	1,70	-	-	-
III	-	-	-	1,90	2,30	1,48	-	-	-	-	-	1,00	-	-	-

Nr.d.
Festsetzung Tabelle 1

Probe	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
I	5,70	5,52	5,28	5,22	5,41	5,72	5,40	5,28	5,38	5,75	5,32	5,51	5,51	5,72	5,83
II	4,58	4,71	4,74	4,58	4,62	4,45	4,77	4,81	4,62	4,54	4,46	4,63	4,34	4,36	4,26
III	4,58	4,57	4,59	4,75	4,73	4,92	4,82	4,67	4,76	4,70	4,88	4,79	4,34	4,57	4,49
	Gesamtkeimzahl														
I	4,83	5,02	4,30	4,20	4,64	4,88	4,28	4,00	4,32	4,30	4,46	4,60	5,42	5,62	5,70
II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	-	-	1,48	-	-	-	-	1,85	1,30	-	1,30	1,30	1,78	2,65	1,78
	Psychrotrophe														
I	4,04	4,11	2,95	3,85	3,90	3,08	3,69	3,38	3,88	3,32	3,78	3,70	4,08	4,18	4,08
II	2,26	2,32	2,11	2,20	2,26	1,90	2,15	1,90	1,85	1,95	1,30	1,30	2,18	2,38	2,11
III	2,46	2,38	2,34	2,26	2,28	2,26	2,36	2,20	1,90	2,23	2,26	2,26	2,32	2,38	2,34
	Caseolyten														
I	2,42	2,28	2,52	2,60	2,30	2,30	2,45	2,26	2,20	2,23	2,43	2,20	2,26	2,08	2,15
II	1,95	1,90	1,60	1,90	1,60	1,00	1,30	1,30	-	1,95	1,95	1,00	1,78	1,90	1,95
III	2,90	2,08	1,95	1,90	1,60	1,70	1,70	1,78	2,20	2,04	1,85	2,18	1,90	2,51	1,78
	Lipolyten														
I	3,54	3,48	2,59	2,15	2,51	2,42	2,38	2,45	2,42	2,79	2,61	2,65	2,65	2,97	2,91
II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	-	-	1,30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Coliforme														
I	1,78	1,90	-	-	1,00	-	-	-	-	2,20	-	1,60	-	-	-
II	-	-	-	-	1,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mikrokokken														

[illegible]

Tabelle 2

Gesamtkeimgehalt der Anlieferungsmilch, geordnet nach Klassen
mit dem Anteil an Psychrotrophen und Caseolyten

Nr. der Klasse	Klasse	Anzahl der Proben	Gesamtkeimzahl			Psychrotrophe			Caseolyten		
			ϕ	Min.	Max.	ϕ	Min.	Max.	ϕ	Min.	Max.
1	$-1,0 \times 10^5$	12	4,93	4,70	5,00	4,32	3,30	4,54	3,53	3,23	3,88
2	$1,0 \times 10^5 - 2,0 \times 10^5$	24	5,19	5,08	5,30	4,01	3,00	4,97	3,45	2,60	4,04
3	$2,0 \times 10^5 - 3,0 \times 10^5$	19	5,41	5,32	5,48	4,73	3,90	5,18	3,67	3,26	4,15
4	$3,0 \times 10^5 - 4,0 \times 10^5$	14	5,55	5,49	5,60	4,99	4,26	5,51	3,85	3,00	4,15
5	$4,0 \times 10^5 - 5,0 \times 10^5$	8	5,68	5,62	5,70	5,17	4,83	5,52	3,87	3,26	4,15
6	$5,0 \times 10^5 - 6,0 \times 10^5$	8	5,74	5,72	5,76	5,20	4,23	5,62	4,06	3,08	4,34
7	$6,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^5$	6	5,82	5,79	5,85	5,42	5,20	5,70	3,99	3,54	4,08
8	$7,0 \times 10^5 - 8,0 \times 10^5$	2	5,86	5,85	5,87	5,29	5,17	5,38	3,53	3,34	3,65
9	$8,0 \times 10^5 - 9,0 \times 10^5$	4	5,94	5,92	5,95	5,32	4,48	5,56	4,15	3,54	4,30
10	$9,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$	0									
11	$> 1,0 \times 10^6$	3	6,17	6,02	6,28	5,44	4,48	5,62	4,27	3,26	4,48

Tabelle 2

Gesamtkeimgehalt der Anlieferungsmilch, geordnet nach Klassen mit dem prozentualen Anteil an Psychrotrophen und Caseolyten sowie der Pasteurisierungsrate des Gesamtkeimgehaltes

Nr. der Klasse	Klasse	Anzahl der Proben	Psychrotrophe %			Caseolyten %			Pasteurisierungsrate		
			Ø	Min.	Max.	Ø	Min.	Max.	Ø	Min.	Max.
1	-1,0x10 ⁵	12	25,7	2,2	58,3	3,9	2,0	7,5	59,4	22,0	86,7
2	1,0x10 ⁵ - 2,0x10 ⁵	24	16,6	0,6	58,3	2,0	0,4	6,4	69,8	27,3	87,6
3	2,0x10 ⁵ - 3,0x10 ⁵	19	21,1	3,6	53,5	1,9	0,7	5,1	80,0	67,7	94,9
4	3,0x10 ⁵ - 4,0x10 ⁵	14	27,4	5,4	82,1	2,0	0,3	3,9	84,3	76,6	91,1
5	4,0x10 ⁵ - 5,0x10 ⁵	8	31,9	13,6	70,2	1,6	0,4	3,3	90,7	81,5	95,0
6	5,0x10 ⁵ - 6,0x10 ⁵	8	29,3	2,9	80,8	1,3	0,2	4,2	92,2	86,3	95,6
7	6,0x10 ⁵ - 7,0x10 ⁵	6	38,9	22,9	74,6	1,5	0,5	1,9	92,6	86,1	97,3
8	7,0x10 ⁵ - 8,0x10 ⁵	2	26,7	21,0	32,4	0,5	0,3	0,6	90,7	90,4	90,9
9	8,0x10 ⁵ - 9,0x10 ⁵	4	24,0	3,4	41,4	1,6	0,4	2,3	92,3	90,2	96,7
10	9,0x10 ⁵ - 1,0x10 ⁶										
11	> 1,0x10 ⁶	3	16,7	2,9	25,3	1,1	0,2	1,6	95,6	93,5	97,6

Tabelle 4

Coliforme in der Anlieferungsmilch, geordnet nach dem Titer
mit den dazugehörigen Gesamtkeimzahlen, Psychrotrophen und Caseolyten

Titer	Coliforme/ml			Anz. d.			Gesamtkeimzahl			Psychrotrophe			Caseolyten		
	Ø	Min.	Max.	Max.	Prob.	Ø	Min.	Max.	Ø	Min.	Max.	Ø	Min.	Max.	
10 ⁻¹ coliformfrei	0	0	0	0	6	5,19	4,70	5,70	4,85*	4,00	5,51	3,28	2,93	3,46	
10 ⁻¹ max. 1 Coliform.	1,00	1,00	1,00	1,00	3	5,16	4,90	5,42	4,23	3,30	4,66	3,34	3,26	3,45	
10 ⁻¹ 2- 10 Coliform.	1,79	1,30	1,00	1,00	11	5,27	4,95	5,66	4,54	3,85	4,98	3,41	2,85	3,88	
10 ⁻¹ 11- 100 Coliform.	2,59	2,04	3,00	74	5,58	4,90	5,83	5,00	5,00	3,00	5,70	3,78	2,60	4,38	
10 ⁻¹ 100 Coliform.	3,60	3,08	3,98	6	5,89	5,52	6,28	5,30	4,83	5,62	4,25	3,90	4,48		

* In dieser Klasse war 1 Wert mit 5,50 Psychrotrophen/ml besonders hoch.
Bleibt er unberücksichtigt, dann beträgt das arithmetische Mittel der übrigen 5 Proben 4,32/ml.

Tabelle 5 Gesamtkeimgehalt der Milch unmittelbar nach dem Erhitzen, geordnet nach Klassen mit dem Anteil an Caseolyten und Lipolyten

Nr. der Klasse	Klasse	Anzahl der Proben	Gesamtkeimzahl			Caseolyten			Lipolyten		
			Ø	Min.	Max.	Ø	Min.	Max.	Ø	Min.	Max.
1	-1,0x10 ⁴	0									
2	1,0x10 ⁴ - 2,0x10 ⁴	4	4,19	4,08	4,26	1,97	1,48	2,11	1,85	1,60	1,95
3	2,0x10 ⁴ - 3,0x10 ⁴	20	4,41	4,32	4,48	2,13	1,30	2,45	1,86	1,00	2,18
4	3,0x10 ⁴ - 4,0x10 ⁴	21	4,55	4,51	4,60	2,15	1,48	2,48	1,93	1,00	2,54
5	4,0x10 ⁴ - 5,0x10 ⁴	12	4,64	4,60	4,70	2,15	1,30	2,56	1,60	-	2,00
6	5,0x10 ⁴ - 6,0x10 ⁴	13	4,75	4,71	4,78	2,21	1,90	2,58	1,72	1,00	2,00
7	6,0x10 ⁴ - 7,0x10 ⁴	8	4,81	4,79	4,85	2,10	1,48	2,45	1,36	-	1,70
8	7,0x10 ⁴ - 8,0x10 ⁴	15	4,88	4,85	4,90	2,20	1,00	2,56	1,63	-	2,20
9	8,0x10 ⁴ - 9,0x10 ⁴	5	4,93	4,91	4,95	2,06	1,00	2,46	1,34	-	1,60
10	9,0x10 ⁴ - 1,0x10 ⁵	2	4,98	4,96	4,99	2,37	1,85	2,60	1,70	1,30	1,90

Tabelle 6
Gesamtkeimgehalt der Milch in verkaufsfertigen Behältnissen,
geordnet nach Klassen mit dem Anteil an Caseolyten und Lipolyten

[illegible]

In Tabelle 1 sind die Untersuchungsergebnisse fortlaufend nach der Nummer der Probe geordnet. Die Keimmenge ist auf die Anzahl Keime pro 1 ml umgerechnet und als logarithmischer Wert dargestellt. Der ausgezogene Strich (-) bedeutet, daß in 0,1 ml kein Keim gefunden wurde.

Der zeitliche Abstand für die Entnahme der Proben von Milch I und Milch II wurde so gewählt, daß beide Ergebnisse innerhalb einer Probennummer direkt verglichen werden können. Dagegen ist das Einzelergebnis von Milch III innerhalb einer Probennummer mit denen von Milch I und II nicht direkt vergleichbar, weil es im praktischen Molkereibetrieb unmöglich ist, eine bestimmte Milch vom Erhitzer bis zur Abfüllung in die verkaufsfertigen Behältnisse zu verfolgen.

Die Ergebnisse in Tabelle 1 zeigen, daß alle Proben der Anlieferungsmilch Psychrotrophe, Caseolyten und Lipolyten enthielten, während Coliforme nur in 94 Proben und Mikrokokken in 57 Proben nachgewiesen werden konnten.

Die Kurzzeiterhitzung bewirkte eine Keimverminderung bei allen Keimgruppen. Psychrotrophe und Coliforme waren in 0,1 ml in keiner Probe nachweisbar. Dagegen wurden Caseolyten in allen Proben gefunden. Lipolyten konnten in 91 Proben und Mikrokokken in 9 Proben ermittelt werden.

In den verkaufsfertigen Behältnissen konnten Psychrotrophe in 77 Proben und Coliforme in 12 Proben wieder nachgewiesen werden. Dabei wurden in 11 Proben, in denen Coliforme vorkamen, auch Psychrotrophe ermittelt und nur in einer Probe wurden Coliforme und keine Psychrotrophe gefunden. Bei den Psychrotrophen handelte es sich ausschließlich um cytochromoxydase-positive, peptonisierende, gramnegative, stäbchenförmige Bakterien. Lipolyten wurden in 96 Proben und Mikrokokken in 9 Proben nachgewiesen.

Die caseolytische Flora der Anlieferungsmilch bestand in jeder Probe aus gramnegativen stäbchenförmigen Bakterien, aeroben Sporenbildnern, Mikrokokken und Sarcinen. Unmittelbar nach dem Erhitzer konnten gramnegative stäbchenförmige Bakterien nicht nachgewiesen werden, aber jede Probe enthielt aerobe Sporen-

bildner sowie Mikrokokken und manchmal Sarcinen. In den verkaufsfertigen Behältnissen wurden außer den letztgenannten Keimgruppen in 21 Proben wieder gramnegative stäbchenförmige Bakterien gefunden. Die gramnegativen Caseolyten wurden nur in den Proben gefunden, in denen auch Psychrotrophe vorkamen. Die einzelnen Keimgruppen der caseolytischen Flora wurden quantitativ nicht ermittelt.

Die lipolytische Flora bestand nur aus aeroben Sporenbildnern. Allerdings bildeten sich um die Kolonien von gramnegativen stäbchenförmigen Bakterien (Milch I und Milch III), Mikrokokken, Streptokokken und coryneformen Bakterien sehr geringe Aufhellungszonen. Das war aber nur dann der Fall, wenn die Platten nach der Entnahme aus dem Brutschrank noch mindestens fünf Tage bei Zimmertemperatur gestanden hatten. Diese Befunde wurden nicht berücksichtigt. 75 Lipolyten - je 25 aus Milch I, II und III - wurden daraufhin geprüft, ob sie Casein spalten können. Bei 70 Stämmen war dies der Fall.

Eigelbpositive Staphylokokken konnten in keiner Probe ermittelt werden. Insgesamt wurden 24 Kokkenstämme biochemisch untersucht - je 8 aus Milch I, Milch II und Milch III -. Diese Keime bildeten keine Koagulase und vergoren Mannit nur aerob. Deshalb werden die ermittelten Keime den Mikrokokken zugeordnet.

In Tabelle 2 ist der Gesamtkeimgehalt der Anlieferungsmilch, nach Klassen zu Hunderttausend geordnet, dargestellt. In jeder Klasse wurde aus den Einzelergebnissen das arithmetische Mittel gebildet. Außerdem ist die Spannweite angegeben. Die Tabelle enthält weiterhin den zu dem entsprechenden Gesamtkeimgehalt gehörigen Anteil an Psychrotrophen und Caseolyten.

55 Proben besaßen einen Gesamtkeimgehalt von maximal $3,0 \times 10^5$ Keime/ml, 69 Proben maximal $4,0 \times 10^5$ Keime/ml und 77 Proben maximal $5,0 \times 10^5$ Keime/ml. Nur 3 Proben enthielten mehr als $1,0 \times 10^6$ Keime/ml.

Mit der Zunahme des Gesamtkeimgehaltes stieg in jeder Klasse auch die Zahl der Psychrotrophen. Die Zunahme der Psychrotrophen war in Klasse 7 besonders groß.

Es kann festgestellt werden, daß mit der Zunahme des Gesamtkeimgehaltes auch die Zahl der Psychrotrophen stieg. Allerdings erfolgte dies nicht immer gleichmäßig. Dasselbe gilt mit einer gewissen Einschränkung auch für die Caseolyten.

Tabelle 3 enthält den prozentualen Anteil der Psychrotrophen und Caseolyten am Gesamtkeimgehalt und die Pasteurisierungsrate bezogen auf den Gesamtkeimgehalt. Die Angaben umfassen wieder das arithmetische Mittel und die Spannweiten.

Die Milch mit einem Gesamtkeimgehalt bis zu $1,0 \times 10^5$ Keimen/ml enthielt einen größeren Anteil an Psychrotrophen als die Milch mit einem Gesamtkeimgehalt von $1,0 \times 10^5$ bis $2,0 \times 10^5$ Keimen/ml und $2,0 \times 10^5$ bis $3,0 \times 10^5$ Keimen/ml. Von der Klasse 2 bis zur Klasse 7 stieg der prozentuale Anteil der Psychrotrophen, wobei der Wert in der Klasse 5 etwas höher lag als in der Klasse 6. Das bedeutet, daß der Gesamtkeimgehalt in dem Bereich bis zu $7,0 \times 10^5$ Keimen/ml wesentlich durch psychrotrophe Bakterien gebildet wurde. In diesen Klassen lagen 79 % der Proben.

Von der Klasse 7 bis zur Klasse 11 verringerte sich der prozentuale Anteil der Psychrotrophen am Gesamtkeimgehalt.

Die Milch mit maximal $1,0 \times 10^5$ Keimen/ml enthielt den höchsten Anteil an Caseolyten. In den folgenden Klassen lag dieser Anteil, mit Ausnahme der Klasse 8, zwischen 1 % und 2%.

Bemerkenswert an diesen Ergebnissen ist, daß der Anteil psychrotropher Bakterien in den Klassen 2 bis 7 stieg, während der Anteil an Bakterien mit caseolytischen Eigenschaften etwa konstant blieb.

Außerdem enthielt die Milch mit einem niedrigen Gesamtkeimgehalt - Klasse 1 - einen hohen Anteil psychrotropher Keime und den höchsten Anteil caseolytischer Bakterien.

Die Pasteurisierungsrate war in der Klasse mit dem geringsten Gesamtkeimgehalt am niedrigsten. Sie stieg, mit Ausnahme der Klassen 8 und 9, mit der Zunahme des Gesamtkeimgehaltes. Die Pasteurisierungsrate war von der Höhe des Keimgehaltes abhängig.

In Tabelle 4 ist der Gehalt an Coliformen in der Anlieferungsmilch, nach dem Titer geordnet, dargestellt und wiederum zum Gesamtkeimgehalt, der Anzahl der Psychrotrophen und der Caseolyten in Beziehung gesetzt. In jeder Klasse wurde das arithmetische Mittel gebildet und die Spannweite angegeben.

Außerordentlich hoch war in den coliformfreien Proben die Anzahl der Psychrotrophen. Hier lag ein Wert mit $3,2 \times 10^5$ besonders hoch. Bleibt dieser eine Wert unberücksichtigt, dann beträgt das arithmetische Mittel der übrigen fünf Proben $2,1 \times 10^4$. Damit war dieser Wert, ähnlich wie bei der Gesamtkeimzahl in dieser Gruppe, auch noch höher als in den Proben, die sich als "coliformfrei" erwiesen hatten. Der Gehalt an Caseolyten ist demgegenüber in den "coliformfreien" Proben am niedrigsten. Mit der Zahl der Coliformen stieg auch der Gesamtkeimgehalt ebenso wie die Menge der Psychrotrophen und der Caseolyten. Zwischen der Anzahl der Psychrotrophen und der Anzahl der Coliformen wurde ein Korrelationskoeffizient von +0,41 errechnet.

In Tabelle 5 ist die Gesamtkeimzahl der unmittelbar nach dem Erhitzer entnommenen Milch, nach Klassen geordnet, dargestellt. Ferner ist der Gehalt an Caseolyten und Lipolyten angegeben. Durch die Kurzzeiterhitzung wurde der Gesamtkeimgehalt so vermindert, daß alle Proben weniger als $1,0 \times 10^5$ Keime/ml enthielten. 57 Proben besaßen sogar weniger als $5,0 \times 10^4$ Keime/ml. Diese Verminderung machte sich allerdings nicht bei den Caseolyten und Lipolyten bemerkbar.

In Tabelle 6 ist die Gesamtkeimzahl der Milch aus den verkaufsfertigen Behältnissen, nach Klassen geordnet, dargestellt. Hier ist der Gehalt an Caseolyten und Lipolyten angegeben. Außer dem arithmetischen Mittel werden auch die Spannweiten angegeben.

In den verkaufsfertigen Behältnissen enthielten nur 90 Proben weniger als $1,0 \times 10^5$ Keime/ml und nur 40 Proben weniger als $5,0 \times 10^4$ Keime/ml. Bei 10 Proben wurden mehr als $1,0 \times 10^5$ Keime/ml nachgewiesen, davon enthielt 1 Probe sogar $2,0 \times 10^5$

Keime/ml.

Diese Ergebnisse bestätigen, daß der Gesamtkeimgehalt der Milch vom Verlassen des Erhitzers bis hin zum verkaufsfertigen Behältnis zunimmt. Auch aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß sich die Proben mit einem niedrigen Gesamtkeimgehalt bezüglich des Vorkommens an Caseolyten und Lipolyten nur unwesentlich oder gar nicht von solchen mit einem höheren Gesamtkeimgehalt unterscheiden.

5. D i s k u s s i o n

Trinkmilch, die im Bundesgebiet verkauft wird, ist eine einfach pasteurisierte Milch. Eine Mehrfachpasteurisierung ist nach den geltenden Vorschriften nicht vorgesehen. Lediglich für West-Berlin besteht wegen der besonderen Situation eine Ausnahme. In West-Berlin wird die Trinkmilch zusätzlich zu der bereits im Erzeugerbereich vorgenommenen Pasteurisierung einer nochmaligen Kurzzeiterhitzung unterworfen, bevor sie in den Verkehr kommt.

Die vorliegende Untersuchung sollte der Frage nachgehen, ob die hygienische Beschaffenheit der Anlieferungsmilch eine solche nochmalige Erhitzung unumgänglich macht und ob auf der anderen Seite die an mikrobiologischen Parametern gemessene Qualität der verkaufsfertig abgefüllten Milch derjenigen entspricht, die eine nur einfach pasteurisierte Trinkmilch aufweist. Gleichzeitig sollte ein Überblick über das Ausmaß der Reinfektion sowohl auf dem Wege von der Molkerei in Westdeutschland nach Berlin als auch während der hier stattfindenden Bearbeitung gewonnen werden.

Die Untersuchung der Anlieferungsmilch ergab, daß auch die Proben mit einem als niedrig anzusehenden Gesamtkeimgehalt stark mit Psychrotrophen, ferner mit gramnegativen Caseolyten und mit Coliformen reinfiziert waren (Tab. 2, 3 und 4). Dabei überstieg die Zahl der Psychrotrophen wesentlich die der Caseolyten und Coliformen (Tab.4).

Bei der psychrotrophen Milchflora sind von zahlreichen Autoren caseolytische (1, 17, 24, 62, 66, 73, 82, 111) und auch lipolytische Eigenschaften (24, 41, 66, 111) nachgewiesen worden, während laktosespaltende Fähigkeiten selten ermittelt wurden (107). Die Psychrotrophen sind damit gerade im Hinblick auf die Haltbarkeit besonders unerwünscht.

Die Untersuchung der psychrotrophen Flora der Anlieferungsmilch erfolgte nur quantitativ, während die psychrotrophe Flora in den verkaufsfertigen Behältnissen auch qualitativ untersucht wurde. Von 100 verkaufsfertigen Behältnissen konnten in 77 Proben Psychrotrophe ermittelt werden, aber

auf dem Calcium-Casein-Pepton-Agar wurden nur in 21 Proben gramnegative stäbchenförmige Caseolyten nachgewiesen. Bei den Psychrotrophen in den verkaufsfertigen Behältnissen handelte es sich um cytochromoxydasepositive, peptonisierende, gramnegative, stäbchenförmige Bakterien, d.h. um Vertreter der *Pseudomonas-Aeromonas*-Gruppe.

Nach diesen Ergebnissen scheint es mit dem Calcium-Casein-Pepton-Agar bei der Bebrütungstemperatur von 30°C nicht möglich zu sein, alle caseolytischen Bakterien zu erfassen.

Es bleibt ungeklärt, ob hierfür der Nährboden, die Bebrütungstemperatur oder andere Faktoren verantwortlich sind. In vergleichenden Untersuchungen zwischen dem Calcium-Casein-Pepton-Agar und dem Milch-Agar nach Baird-Parker konnten Z A A D H O F und T E R P L A N mit dem Milch-Agar signifikant höhere Keimzahlen ermitteln (123).

Obwohl die psychrotrophe Flora der Anlieferungsmilch nur quantitativ ermittelt wurde und auf dem Calcium-Casein-Pepton-Agar viel weniger Caseolyten nachgewiesen werden konnten, wird in Übereinstimmung mit der Literatur angenommen, daß es sich bei diesen Psychrotrophen hauptsächlich um Caseolyten handelte.

Die große Anzahl psychrotropher Keime in der Anlieferungsmilch macht eine erneute Pasteurisierung erforderlich. Hierbei muß noch beachtet werden, daß bis zur Abgabe an die Verbraucher eine Vermehrung gerade dieser Keime zu erwarten ist und damit die Qualität der Milch sich verschlechtern würde. Diesem Tatbestand kommt vor allem in den Sommermonaten eine besondere Bedeutung zu, weil die Milch in Berlin ungekühlt von der Molkerei zu den Geschäften transportiert wird und dann teilweise mehrere Stunden bis zum Beginn der Geschäftszeit vor den Läden steht.

Darüber hinaus enthielten 80% der Proben mehr als $1,0 \times 10^2$ Coliforme/ml (Tab. 4). Damit besteht auch eine hygienische Indikation für eine erneute Erhitzung.

In 94 Proben konnten in 0,1 ml Coliforme nachgewiesen werden. In den Trinkmilch-VO von Bayern, Nordrhein-Westfalen und Schleswig-Holstein wird gefordert, daß die pasteurisierte

Milch in 0,1 ml keine Coliformen enthalten soll (65). Die Verordnungen sind zwar in West-Berlin kein geltendes Recht, aber eine Nichtbeachtung dieser Normen würde eine Benachteiligung der hiesigen Milchverbraucher bedeuten.

Durch die zweite Pasteurisierung wurde der Keimgehalt vermindert. Der Gesamtkeimgehalt betrug danach in allen Proben weniger als $1,0 \times 10^5$ Keime und 57% der Proben enthielten maximal $5,0 \times 10^4$ Keime/ml (Tab. 5). In der unmittelbar nach dem Passieren des Erhitzers entnommenen Milch wurden keine Psychrotrophen, keine gramnegativen Caseolyten und keine Coliformen, bezogen auf 0,1 ml, mehr gefunden (Tab. 1). Diese Ergebnisse bestätigen die aus der Literatur bekannten Angaben (8, 22, 39, 96, 114, 119). Die Zahl der lipolytisch aktiven aeroben Sporenbildner und der Mikrokokken verringerte sich ebenfalls.

Die Pasteurisierungsrate stieg mit zunehmender Keimzahl (Tab. 3). Dieser Tatbestand steht in einem gewissen Gegensatz zu den Erfahrungen bei Hitzeresistenzprüfungen mit Bakterien-Reinkulturen. Hier steigt die Pasteurisierungsrate bei gleichbleibender Temperatureinwirkung mit zunehmender Keimzahl nicht. In der Milch liegt dagegen eine Mischflora vor. In ihr sind hitzeresistente Arten enthalten, die bei der ersten Pasteurisierung in Westdeutschland nicht abgetötet worden sind. Während des Transportes bei $+6^{\circ}$ bis $+8^{\circ}\text{C}$ konnten sich diese Keime jedoch kaum vermehren. Den gramnegativen stäbchenförmigen Reinfektionskeimen mit ihren psychrotrophen Eigenschaften war dagegen ein Wachstum möglich. 79% der Proben lagen in einem Bereich, in dem die Erhöhung der Gesamtkeimzahl wesentlich durch die Anzahl der Psychrotrophen bedingt war (Tab. 3). Dementsprechend war der Anteil der hitzeresistenten Keimarten, die die erste Pasteurisierung überlebt hatten, geringer. Die Pasteurisierungsrate mußte daher umso höher sein, je höher der Gesamtkeimgehalt war, da die Reinfektionsflora durch die zweite Kurzzeiterhitzung vollständig abgetötet wurde.

Die Verminderung der lipolytisch aktiven aeroben Sporenbildner (Tab. 1) gibt allerdings einen Hinweis darauf, daß durch die zweite Pasteurisierung auch Vertreter der hitzeresistenten Keimarten abgetötet werden. Der Anteil dieser Keime scheint in der Anlieferungsmilch mit einem niedrigen Gesamtkeimgehalt besonders niedrig gewesen zu sein (Tab. 3).

Für die Verderbnis der pasteurisierten Milch besitzen die hitzeresistenten Keimarten eine geringe Bedeutung. Bei Zimmertemperatur können sie, mit Ausnahme der aeroben Sporenbildner, die Milch erst in einigen Tagen verändern (39, 124). Bei Kühlschranktemperatur können sich die hitzeresistenten Keimarten wahrscheinlich gar nicht vermehren. K U N T Z E hatte bereits 1908 beobachtet, daß sich eine pasteurisierte nicht reinfizierte Milch bei Kühlschrankaufbewahrung geschmacklich nicht selten noch nach 4 Wochen als tadellos erwies (63). In Schweden wird dem Verbraucher für pasteurisierte Milch bei Aufbewahrung im Kühlschrank eine Haltbarkeit von sieben Tagen garantiert.

Bis zur Abfüllung in die verkaufsfertigen Behältnisse wird die Milch wieder reinfiziert. Wie diese Untersuchungen zeigten, stieg der Gesamtkeimgehalt, und es wurden wieder gramnegative Keime gefunden. Während unmittelbar nach dem Verlassen des Erhitzers alle 100 Proben weniger als 10^5 Keime enthielten, besaßen 10 Proben aus den verkaufsfertigen Behältnissen mehr als $1,0 \times 10^5$ Keime. In 77 Proben wurden Psychrotrophe nachgewiesen, in 21 Proben auf dem Calcium-Casein-Pepton-Agar gramnegative Caseolyten, und 12 Proben enthielten Coliforme.

Der Gesamtkeimgehalt der West-Berliner Trinkmilch nach der zweiten Pasteurisierung lag nicht höher als in der von F E I L S untersuchten einfach pasteurisierten Handelsmilch in Westdeutschland (34).

L A N G dagegen hat bei seinen Untersuchungen westdeutscher Trinkmilch einen wesentlich höheren Gesamtkeimgehalt ermittelt (67).

Die Berliner Trinkmilch enthielt nach der zweiten Pasteurisierung nicht mehr Caseolyten als D E L I S in einfach pasteurisierter Milch in Westdeutschland nachwies (21).

Vor der zweiten Kurzzeiterhitzung lag der Gesamtkeimgehalt der Berliner Trinkmilch höher als ihn L A N G bei seinen Untersuchungen festgestellt hatte.

Die Zahl der Caseolyten war vor der zweiten Pasteurisierung viel größer als sie D E L I S unmittelbar nach der ersten Pasteurisierung ermittelt hatte.

Wegen der besonders haltbarkeitsgefährdenden Eigenschaft der gramnegativen stäbchenförmigen Caseolyten ist die Erkennung einer Reinfektion mit Recht als ein "zentrales Problem" der Molkereien bezeichnet worden. Für die Erkennung einer Reinfektion wird die Ermittlung des Coliformen-Titers in den Molkereien für ausreichend gehalten (119).

Die Berliner Anlieferungsmilch erreicht ca. 12 - 16 Stunden nach ihrer ersten Pasteurisierung die hiesigen Molkereien. In dieser Zeit betrug die Temperatur etwa $+6^{\circ}$ bis $+8^{\circ}\text{C}$. Es fragt sich, ob hiernach die bloße Ermittlung des Coliformen-Titers für die Beurteilung der hygienischen Beschaffenheit der Milch ausreicht. Diese Keimgruppe hat sich in dem fraglichen Zeitraum kaum vermehren können. Die Psychrotrophenzahl hingegen nahm merklich zu. Das Wachstumsverhalten der einzelnen Anteile der Reinfektionsflora ist somit durchaus unterschiedlich. Die Ermittlung des Coliformen-Titers liefert der betriebsinternen Kontrolle wertvolle Hinweise auf die Sauberkeit der Behandlung im eigenen Betrieb. Zur Beurteilung des Frischegrades, der Haltbarkeit und damit des hygienischen Zustandes der Westberliner Anlieferungsmilch im weitesten Sinne bedurfte es jedoch der Untersuchung noch anderer Flora-Anteile. Die Psychrotrophen erweisen sich bei den vorliegenden Untersuchungen hierfür als besonders geeignet. Die bloße Feststellung des ursprünglichen Reinfektionsgrades, gemessen am Coliformen-Titer, reichte hier nicht mehr aus.

Zwischen der Anzahl der Coliformen und der Anzahl der Psychrotrophen bestand zwar ein positiver Zusammenhang,

aber die tatsächliche Entwicklung der Reinfektionsflora konnte durch die Ermittlung der Coliformen nicht sichtbar gemacht werden (Tab. 4). Das gleiche galt auch für die Beurteilung der Reinfektionsflora im hiesigen Betrieb, wie die Untersuchung der verkaufsfertigen Behältnisse 8 bis 10 Stunden nach der zweiten Pasteurisierung zeigte (Tab. 1).

Die Ursache für das Überwiegen der nichtcoliformen Reinfektionsflora über die Coliformen konnte in einer unterschiedlichen Reinfektionsmenge liegen. Wahrscheinlicher ist, daß die nichtcoliforme Flora mit ihren ausgeprägten psychrotrophen Eigenschaften sich unter den Bedingungen ständiger Kühllagerung viel besser vermehrt als die Coliformen. Nach mehrstündiger oder gar mehrtägiger Kühllagerung der pasteurisierten Milch kann daher der Coliformen-Titer nur wenig über Art und Umfang der Reinfektion aussagen.

Schlußfolgerungen

Eine gute Haltbarkeit der nach West-Berlin gelieferten Trinkmilch kann ohne eine zweite Pasteurisierung nicht garantiert werden. Die Notwendigkeit einer erneuten Erhitzung ergibt sich vor allem aus der hohen Zahl psychrotropher Reinfektionskeime. Die alleinige Ermittlung des Coliformen-Titers erfaßte weder in der Anlieferungsmilch noch in den verkaufsfertigen Behältnissen die tatsächliche Entwicklung der Reinfektionsflora.

Mit dem Calcium-Casein-Pepton-Agar und bei der Bebrütungstemperatur von $+30^{\circ}\text{C}$ ist es nicht möglich, alle caseinspal tenden Keime nachzuweisen.

Die Vernichtung der gramnegativen Reinfektionsflora und die Verminderung der aeroben Sporenbildner durch die zweite Pasteurisierung verbessern die Haltbarkeit.

Hinsichtlich des Keimgehaltes weist die in West-Berlin in den Verkehr gebrachte Trinkmilch keinen wesentlichen Unterschied zu der einfach pasteurisierten Trinkmilch in Westdeutschland auf.

6. Zusammenfassung

Innerhalb von 11 Monaten wurden 100 Proben Anlieferungsmilch, 100 Proben unmittelbar nach dem Passieren des Erhitzers entnommene Milch und 100 Proben Milch aus verkaufsfertigen Behältnissen bakteriologisch untersucht. Die Untersuchung umfaßte:

- 1) Gesamtkeimgehalt, 2) Psychrotrophe, 3) Caseolyten,
- 4) Lipolyten, 5) Coliforme, 6) Staphylokokken.

Die nach Berlin gelieferte Milch war auch bei einem niedrigen Gesamtkeimgehalt stark reinfiziert. In 94 Proben wurden Coliforme ermittelt. 80 Proben enthielten mehr als 100 Coliforme/ml. Die Menge der Psychrotrophen und der Gehalt an Coliformen machten eine zweite Erhitzung notwendig.

Mit dem Calcium-Casein-Pepton-Agar und der Bebrütung bei $+30^{\circ}\text{C}$ war es nicht möglich, alle caseolytischen Bakterien zu erfassen. Die Ermittlung der Coliformen läßt nach mehrstündigem Transport keinen Rückschluß auf den tatsächlichen Umfang der Reinfektionsflora zu. Die Zählung der Psychrotrophen bietet hierfür ein eher brauchbares Maß.

Die zweite Pasteurisierung bewirkte eine allgemeine Keimverminderung. In der unmittelbar nach dem Passieren des Erhitzers entnommenen Milch konnten in 0,1 ml keine Psychrotrophen, keine gramnegativen Caseolyten und keine Coliformen nachgewiesen werden. Alle Proben enthielten weniger als $1,0 \times 10^5$ Keime/ml, und 57% der Proben besaßen maximal $5,0 \times 10^4$ Keime/ml. Die Pasteurisierungsrate, bezogen auf den Gesamtkeimgehalt stieg mit zunehmender Keimzahl.

Vom Erhitzer bis zur Abfüllung in die verkaufsfertigen Behältnisse wurde die Milch wieder reinfiziert. Von 100 Proben enthielten 90 weniger als $1,0 \times 10^5$ Keime und nur 40 besaßen einen maximalen Gesamtkeimgehalt von $5,0 \times 10^4$. In 77 Proben wurden Psychrotrophe gefunden und in 21 Proben konnten mit dem Calcium-Casein-Pepton-Agar gramnegative Caseolyten ermittelt werden. 12 Proben enthielten coliforme Keime. Koagulase-positive Staphylokokken konnten in keiner Probe nachgewiesen werden. Die West-Berliner Trinkmilch wies nach der zweiten Pasteurisierung in bakteriologischer Hinsicht keine geringere Qualität auf als die einfach pasteurisierte Trinkmilch in Westdeutschland.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

- 1) Abd-El-Malek, Y.
and Gibson, T.: Studies in the Bacteriology of Milk
IV The Gram-Negative Rods of Milk
J.Dairy Res. 19, 1952, 294-301
- 2) Abo-Elnaga, J.G.
und Kandler, O.: Zur Charakterisierung der in Milch
vorkommenden Staphylokokken
Zbl.Bakt.Orig. 196, 1965, 438-451
- 3) dieselben: Zur Verbreitung der Staphylokokken
in Milch
Arch.Lebensmittelhyg. 16, 1965,
132-137
- 4) Alford, J.A.
and Steinle, E.: Improved Plating Method for the
Determination of Microbial Lipolysis
Bact.Proc.Abstr. 1966, p.14
- 5) Anderson, J.A.
and Mc Grath, J.T.: Lipolytic activities of several
bacteria causing bitter cream
J.Bact. 27, 1934, 69
- 6) Antigone, E.: Hitzeresistente Bakterien der Coli-
Gruppe aus Milch
VI. Mikrobiol.Kongreß 1953
ref. ZLU 99, 1954, 130-131
- 7) Babel, F.J.: Activity of bacteria an enzymes in
raw milk held at 4,4°C
J.Dairy Sci. 36, 1953, 562
- 8) Baller, G.: Über die Hitzeresistenz coliformer
Bakterien bei der Kurzzeiterhitzung
der Trinkmilch
Vet.Diss. Hannover 1964
- 9) Barber, F.W.: Hygienic Control Fluid Milk.
Milk Hygiene
World Health Organisation, Genf,
1962, 306-308
- 10) Beck, G.: In: Lehrbuch der tierärztlichen
Milchüberwachung
von M. Lerche
Verlag Paul Parey, Berlin, 1966, 237
- 11) Bischoff: Über Eismilch
Arch.Hyg. 47, 1903, 68-92

- 12) Burgwald, L.H.
and Josephson, D.V.: The Effect of Refrigerator Storage
on the Keeping Qualities of Pasteu-
rized Milk
J.Dairy Sci. 30, 1947, 371-383
- 13) Busse, M.: Ist der TTC-Titer als Ersatz für
den Colititer bei der hygienischen
Beurteilung von Milch und Milchpro-
dukten geeignet ?
Sonderdruck aus der Molkerei- und
Käserei-Zeitung 17, 1966, Nr. 11
- 14) derselbe: Vergleich verschiedener Methoden
zur Bestimmung der bakteriologischen
Qualität kühlgelagerter Milch
Milchwiss. 21, 1966, 289-293
- 15) Candill, F.W.
and Meyer, M.A.: An epidemic of food poisoning due
to pasteurized milk
J.Milk Technol. 6, 1943, 73
zit.n. Lit.verz. Nr. 3)
- 16) Clark jr., W.S.
and Nelson, F.E.: Multiplication of Coagulase-Positive
Staphylococci in Grade a Raw Milk
Samples
J.Dairy Sci. 44, 1961, 232-236
- 17) Conn, H.W.
and Esten, W.M.: Bull.Storrs agric.Exp.Sta.26, 1903
zit.n. Lit.verz. Nr. 73)
- 18) Coretti, K.: Über die lipolytische Enzymaktivität
von Milchsäurebakterien
Jb.der Bundesanstalt für Fleisch-
forschung 1961, 38
- 19) derselbe: Vorkommen und Bedeutung lipolyti-
scher Mikroorganismen in Dauerwürsten
Fleischwirtschaft 45, 1965, 21-24
- 20) Cuthbert, W.A.: The significance of thermoduric
organisms in milk
IDF-Ann.Bull. IV, 1964, 10-21
ref. Milchwiss. 20, 1965, 94
- 21) Delis, Chr.: Systematische Untersuchungen über die
in pasteurisierter Trinkmilch vorkom-
menden Caseolyten, unter besonderer
Berücksichtigung der Bestimmung und
ihrer Bedeutung für die Milzhalt-
barkeit
Vet.Diss. Hannover 1961

- 22) Demeter, K.: Diskussionsbeitrag
VI. Internat. Mikrobiol. Kongreß
Rom 1953, Kongreßbericht
- 23) derselbe: Mikrobiologie der Butter
Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 1956
- 24) Druce, R.G.: 1957 (Personal communication)
zit. n. Lit. verz. Nr. 110)
- 25) Eddy, B.P.: The use and meaning of the psychro-
philic
J. appl. Bact. 23, 1960, 189-190
- 26) Edwards, S.J. and Smith, G.S.: Epidemiology of mastitis in three
dairy herds
J. comp. Path. 76, 1966, 231-240
ref. Zbl. Bakt. Ref. 209, 1967, 14-15
- 27) Elliker, P.R.: J. Milk Food Tech. 13, 1952, 156
zit. n. Lit. verz. Nr. 110)
- 28) El-Sadek, G.M. and Richards, T.: The Nature and Quantity of Fatty
Acids Produced in Butterfat by the
Action of Micro-Organisms
J. Dairy Res. 16, 1949, 46-52
- 29) dieselben: The effect of the heat treatment on
the lipolytic flora of cream
J. Dairy Res. 22, 1955, 295-310
- 30) Elsner, A.: Untersuchungen über die Wirksamkeit
zweier Verfahren zur maschinellen
Reinigung und Desinfektion von Groß-
tanks in Molkereien
Vet. Diss. FU Berlin 1966
- 31) Erdmann, I.E. and Thornton, H.R.: Canad. J. Tech. 29, 1951, 232
zit. n. Lit. verz. Nr. 110)
- 32) Evans, J.B. and Niven jr., C.F.: A comparative study of known food-
poisoning staphylococci and related
varieties
J. Bact. 59, 1950, 545-550
- 33) Feils, G.: Über die Pathogenität der in Milch
vorkommenden Staphylokokken
Arch. Lebensmittelhyg. 8, 1957, 33-35
- 34) derselbe: Erfahrungen bei der Keimzahlbestim-
mung in pasteurisierter Trinkmilch
Arch. Lebensmittelhyg. 17, 1966 8-11

- 35) Flügge, C.: Die Aufgaben und Leistungen der Milchsterilisierung gegenüber den Darmkrankheiten der Säuglinge
Zschr.Hyg.-u.Infektionskrankheiten 17, 1894, 272-342
- 36) Franklin, J.G.
and Sharpe, M.E.: The incidence of bacteria in cheese milk and Cheeddar cheese and their association with flavour
J.Dairy Res. 30, 1963, 87-99
- 37) Freyer, T.F.,
Lawrence, R.C.
and Reiter, P.: Methods for Isolation and Enumeration of Lipolytic Organisms
J.Dairy Sci. 50, 1967, 477-484
- 38) Fuchs, D.: Die Infektion der Butter mit Fremdorganismen durch die Molkereigeräte und das Betriebswasser unter besonderer Berücksichtigung des Fettspaltungsvermögens der Milchflora
Diss. T.H. Zürich 1949
- 39) v. Gavél, L.: Pasteurisation als Selektion resistenter Formen
Milchwiss. 15, 1960, 227-233
- 40) Gedek, W.: Zur Routinediagnostik in Milch vorkommender Staphylokokken und Mikrokokken
Arch.Lebensmittelhyg. 17, 1966, 110-113
- 41) Gelpi, A.J. jr.: St.Dairy Prod.J. 73, 1963, 40-41
ref. DSA Vol. 25, 1963, 287
(ref.2058)
- 42) Grün, L.: Staphylokokken in Klinik und Praxis
Wiss. Verlag Stuttgart 1964
- 43) Gubitz, H.: Kältebakterien, mit besonderer Berücksichtigung ihrer Bedeutung für die Milchwirtschaft
Milchwirtschaftliche Forschungen 2, 1928, 407-456
- 44) Hackler, F.: Vergleichende Untersuchungen zur Haltbarkeit pasteurisierter Trinkmilch und Molkereianlieferungsmilch unter besonderer Berücksichtigung des Nachweises aerober Sporenbildner
Vet.Diss. Hannover 1961

- 45) Hammer, B.W.
and Babel, F.J.: Dairy Bacteriology
4th ed., New York 1957
Wiley and Sons Inc.
zit.n. Lit.verz.Nr. 110)
- 46) Hartwig, H.: Zur Untersuchung von Milch auf
Proteolyse
Milchwirtschaftl.Forschungen
2, 1930, 339-354
- 47) Internationaler
Milchwirtschafts-
verband: Standard-Routinemethoden für die
Zählung coliformer Bakterien in
Rohmilch
Milchwiss. 23, 1968, 297-298
- 48) Orla-Jensen, A.D.: Studien über das Ranzigwerden
der Butter
Zbl.Bakt. II, 8, 1902
- 49) derselbe: The lactic acid bacteria
Andr.Fred.Høst and Son,
Copenhagen 1919
- 50) Jensen: zit.n.R.v.Ostertag:
Wie hat sich die Gesundheitspolizei
gegenüber dem Verkauf pasteurisier-
ter Milch zu stellen ?
Zschr.Fleisch-u.Milchhyg.
15, 1905, 293-295
- 51) Jones, A.
and Richards, T.: Proc.Soc.appl.Bact.15, 1952, 82
zit.n. Lit.verz. Nr. 68)
- 52) Kandler, O.: Über die Hitze-resistenz und den
Nachweis der Mikroflora kurzzeit-
erhitzter Milch
Milchwiss. 15, 1960, 165-171
- 53) derselbe: Zur Definition der "psychrophilen"
Bakterien
Milchwiss. 21, 1966, 257-261
- 54) Kandler, O.
und Abo Elnaga, J.G.: Ergebnisse, verteilt auf der Sitzung
des Arbeitskreises Mikrobiologie der
Deutschen Gesellschaft für Milchwis-
senschaft im März 1966 in Berlin

- 55) Kästli, P.: Die Möglichkeit der Übertragung von
Tuberkelbakterien durch den Konsum
von Milch und Milchprodukten
Milchwiss. 7, 1952, 382-383
- 56) derselbe: Milchkunde II
Buchverlag Verbandsdruckerei AG.,
Bern 1963
- 57) Kästli, P.
und Binz, M.: Das Verhalten einiger Mikroorganis-
men in roher und pasteurisierter
Milch
Schweiz.Milchztg. Nr. 94, Wissen-
schaftl. Beilage Nr. 61, 1958
ref. Milchwiss. 14, 1959, 357
- 58) Kaufmann, O.W.
and Andrews, R.H.: The destruction rate of psychro-
philic bacteria in skimmilk
J.Dairy Sci. 37, 1954, 317-327
- 59) Kielwein, G.: Feststellung und Bewertung von
Pseudomonaden in Milch
Arch.Lebensmittelhyg. 19, 1968, 25-30
- 60) Kraus, H.: Untersuchungen zur Qualitätsverbes-
serung der Trinkmilch unter beson-
derer Berücksichtigung der Proteoly-
ten
Habil.Schr. Hannover 1958
- 61) derselbe: Die Proteolyten in der Lebensmit-
telhygiene
1.Mitt. Definition und Eigenschaften
der Proteolyten
Arch.Lebensmittelhyg. 10, 1959, 276-281
- 62) Kundrat, W.: Psychrophile Bakterien in Milch
und Milchprodukten
Arch.Lebensmittelhyg. 17, 1966, 160-162
- 63) Kuntze, W.: Gewinnung keimarmer Milch
Zbl.Bakt. II, 20, 1908, 420-443
- 64) Laboths, H.,
Stadhouders, Th.
und Galesloot, E.: Neth.Milk and Dairy J. 14, 1960, 23
zit.n. Lit.verz. Nr. 87)
- 65) Lachner, G.: Vergleichende Studien über mikro-
biologische Normen bei Anliefe-
rungsmilch sowie erhitzter und roher
Trinkmilch
Vet.Diss. Hannover 1966

- 66) Lacrosse, R.: Caractères caséolytique ou lipolytique des bactéries psychrophiles isolées dans les laits ou les crèmes conservés à basse température
Milchwiss. 21, 1966, 278-279
- 67) Lang, K.: Untersuchungen zur Methodik der kulturellen Gesamtkeimzahlbestimmung bei pasteurisierter Milch
Arch.Lebensmittelhyg. 18, 1967, 222-226
- 68) Lawrence, R.C.: Microbiol.Lipases and related Esterases
Dairy Sci.Abstr. 29, 1967
Part. I, S. 1-8
Part. II, S.59-70
- 69) Laxa, O.: Über die Spaltung des Butterfettes durch Mikroorganismen
Arch.Hyg. Bd. XLI, 115-151
ref. Zbl.Bakt.II, 8, 1902, 252-254
- 70) Lerche, M. und Lorenzen: Erfahrungen in der amtlichen Milchkontrolle von Vorzugs- und Markenmilch
Milchwirtschaftliche Forschungen 13, 1932, 457-506
- 71) Lerche, M. und Klein, H.: Untersuchungen über den Keimgehalt der in West-Berlin angelieferten und molkereimäßig bearbeiteten Milch
Arch.Lebensmittelhyg. 5, 1954, 133-139
- 72) Ljunggreen, B.: Svenska Mejeritidn. 49, 1957, 729-732, 735-736, 739
ref. ZLU 109, 1959, 520
- 73) Luxwolda, W.B.: Wachstum und Wirkung einiger Milchbakterien bei verschiedenen Temperaturen
Zbl.Bakt.II, 31, 1912, 129-175
- 74) Methodenkommission: Die mikrobiologischen Methoden zur Untersuchung von Milch und Milcherzeugnissen
Milchwiss. 15, 1960, 120-129
- 75) Miklik, E.: Über das Eiweißabbau- und Fettspaltungsvermögen einer Rhodotorula aus der Butter
Milchwiss. 8, 1953, 23-26

- 76) Mossel, D.A.A.: Aufgaben und Durchführung der modernen hygienisch-bakteriologischen Lebensmittelüberwachung
Wiener Tierärztl.Mschr. 43, 1956, 321-340 u. 596-610
- 77) Nissen, W.: Untersuchungen über das Vorkommen von Hefen in der Erde, mit besonderer Berücksichtigung der für die Milchwirtschaft wichtigen Arten
Milchwirtschaftl.Forschungen 10, 1930, 30-67
- 78) Obiger, G.: Zur Frage der milchhygienischen Bedeutung der Staphylokokken
Arch.Lebensmittelhyg. 11, 1960, 265-271
- 79) derselbe: Zum Pathogenitätsbegriff und -nachweis von Staphylokokken aus Milch
Mhefte.Tierheilk. 13, 1961, 225-239
- 80) Olson, J.C., Willoughby, D.S., Thomas, E.L. and Morris, H.A.: J.Milk Food Tech. 16, 1953, 216
zit.n. Lit.verz.Nr. 110)
- 81) Overcast, W.W. and Skean, J.D.: Growth of Certain Lipolytic Microorganisms At 4°C. And their Influence on Free Fat Acidity And Flavor of Pasteurized Milk
J.Dairy Sci. 42, 1959, 1479-1485
- 82) Pearson: Canad.Dairy Ice Cr.J. 34, 1955, 35
zit.n. Lit.verz. Nr. 110)
- 83) Pennington, M.E.: J.biol.Chem. 4, 1908, 353
zit.n. Lit.verz. Nr. 110)
- 84) derselbe: zit.n. Lit.verz. Nr. 110)
- 85) derselbe: zit.n. Lit.verz. Nr. 73)
- 86) Perry, K.-D., Sharpe, M.E. and Mattick, A.T.R.: Lactobacilli in the air of creameries
J.Dairy Res. 25, 1958, 407-408
- 87) Pette, J.W.: Das Verderben der Milch
Wissenschaftl.Veröffentlichung Deutsche Gesellschaft f. Ernährung 8, 1962, 70-85
- 88) Piraux, E. und Antoine, A.: Ber. 12.Weltmilchkongreß Stockholm Sekt. II, 1949, 580-585

- 89) Pohja, M.S.
und Niinivaara, F.P.: Eigenschaften und Bedeutung der in Rohwurst und in Pökellake vorkommenden Fett abbauenden Bakterien
Fleischwirtschaft 44, 1964, 435-439
- 90) Pothmann, F.-J.
und Hillebrand, H.: Die Re-Infektion der Milch nach der Pasteurisation
Ztschr.Hyg. 140, 1954, 201-218
- 91) Pulverer, G.: Pathogene Staphylokokken bei Mensch und Tier sowie im Freiland
Habil.Schr. Köln 1963
- 92) Rath, S.: Ein Versuch zur Verbesserung der Methodik zur quantitativen Ermittlung lipolytischer Keime
Milchwiss.Berichte Wolfpassing und Rotholz 11, 1961, 97-122
- 93) Reid, W.B.
and Wilson, J.B.: A Study of the Staphylococci Associated with the Bovine Udder
Amer.J.Vet.Res. 20, 1959, 825-831
- 94) Rittmeyer, H.: Kurzer Beitrag über das Vorkommen von Staphylokokken in Vorzugsmilch
Arch.Lebensmittelhyg. 15, 1964, 223-225
- 95) Roeder, G.: Grundzüge der Milchwirtschaft und des Molkereiwesens
Verlag Paul Parey, Berlin 1954
- 96) Rogick, F.A.
and Burgwald, L.H.: J.Milk Food Tech. 15, 1952, 181
zit.n. Lit.verz. Nr. 110)
- 97) Schönberg, F.
und Kraus, H.: Zur weiteren Verbesserung des TTC-Agars für die elektive Feststellung von coliformen Keimen in Milch und Wasser durch Laktosezusatz und zur Brauchbarkeit des Bromthymolblau-Trypaflavin-Laktose-Agars
Lebensmitteltierarzt 5, 1954, 194-195
- 98) Schönherr, W.: Zur Frage der Standardisierung des Nachweises coliformer Keime
Milchwiss. 14, 1959, 280-281
- 99) Übersicht der Schriftleitung Aktuelle Probleme der Nahrungsmittelinfektion
Dtsch.Med.Wschr. 81, 1956, 1419-1421

- 100) Schulze, H.: Zum Nachweis der mikrobiell bedingten hydrolytischen Fettspaltung
Vet.Diss. München 1965
- 101) Sedlak, J.: Enterotoxikosis staphylococcica
Zbl.Bakt. I Orig. 170, 1957, 129-131
- 102) Seelemann, M. und Wegener, K.-H.: Zum Nachweis von Escherichia- und Aerobacter-Keimen in Milchproben
Milchwiss. 11, 1956, 51-56
- 103) Sherman, J.M., Cameron, G.M. and White, J.C.: The Bacteriological Spoilage of Milk Held Near the Freezing Point
J.Dairy Sci. 24, 1941, 526-527
- 104) Sinell, H.-J.: In: Lehrbuch der tierärztlichen Milchüberwachung von M. Lerche
Verlag Paul Parey, Berlin 1966
- 105) Sinell, H.-J. und Baumgart, J.: Selektivnährböden mit Eigelb zur Isolierung von pathogenen Staphylokokken aus Lebensmitteln
Zbl.Bakt. I Orig. 204, 1967, 248-267
- 106) Sipka, M. und Zakula, S.: Der Einfluß verschiedener Aufbewahrungstemperaturen auf die hygienische Beschaffenheit pasteurisierter Milch
XVII. Intern.Milchwirtschaftskongreß, München 1966
Sekt. B:2, 505-508
- 107) Sobeck-Skal, E. und Binder, W.: Über die kältetolerante coliforme Flora in Molkereibetrieben
Milchwiss.Berichte Wolfpassing und Rotholz 11, 1961, 225-233
- 108) Storgårds, T.: Kvalitetsproblem i samband med kylagering av mjölk
Nord.Mejeri-Tidsskr. Nr.1 u. 2, 1962
ref. Milchwiss. 18, 1963, 201
- 109) Terplan, G., Rundfeldt, H. und Zaadhof, K.-J.: Zur Eignung verschiedener Nährböden für die Bestimmung der Gesamtkeimzahl der Milch
Arch.Lebensmittelhyg. 18, 1967, 9-11
- 110) Thomas, S.B.: Psychrophilic Micro-Organisms in Milk and Dairy Products
Part I S.449-468
Part II S.357-370
Dairy Sci.Abstr. 20, 1958

- 111) Thomas, S.B.
and Rowland, A.M.: 1957 (unpublished)
zit.n. Lit.verz. Nr. 110)
- 112) Thomas, S.B.
and Shekhar, C.V.: Proc.Soc.appl.Bact. 1946, 47
zit.n. Lit.verz. Nr. 110)
- 113) Thomas, S.B.,
Thomas, B.F.
and Ellison, D.: Dairy Ind. 14, 1949, 921
zit.n. Lit.verz. Nr. 110)
- 114) Thomé, K.E.
und Ljunggren, B.: Rep.Milk and Dairy Res. 1957
Alnarp, Schweden
zit.n. Lit.verz. Nr. 110)
- 115) Tovar, J.: Systematische hygienisch-bakterio-
logische Stufenkontrolle in einer
Großstadtmolkerei
Vet.Diss. Hannover 1955
- 116) Watrous, G.H.,
Doan, F.J.
and Josephson, D.V.: Bull.Pa agric.Exp.Sta.1952,551
zit.n. Lit.verz. Nr. 110)
- 117) Weed, L.A.,
Michael, A.C.
and Harger, R.N.: Staphylococcus intoxication with two
fatalities due to milk from a goat
suffering from staphylococcus
mastitis
J.Bact. 45, 1943, 414
- 118) Weigmann: in Sommerfelds Handbuch der Milch-
kunde
zit.n. Lit.verz. Nr. 73)
- 119) Weiss, N.
und Busse, M.: Die Bedeutung und Zweckmäßigkeit des
Colititers
Dtsch.Molkerei-Ztg. 89, 1968, 1299-
1303
- 120) Witter, L.D.: Psychrophilic Bacteria - A Review
J.Dairy Sci. 44, 1961, 983-1015
- 121) Wolff, A.: Zur Kenntnis der Veränderungen in
der Bakterienflora der frischen
Milch während des sogenannten
Inkubationsstadiums
Zbl.Bakt.II, 20, 1908, 545-563,
651-675, 737-780
- 122) Worseck, M.: Staphylokokken als Ursache von
Lebensmittelvergiftungen und eigene
Untersuchungen über die Toxidität
von Mastitis-Staphylokokken
Arch.Lebensmittelhyg.7, 1956, 145-148

- 123) Zaadhof, K.-J.
und Terplan, G.:

Zur Eignung verschiedener Nährme-
dien für den Nachweis von Clostri-
dien und Proteolyten in Milch

Arch.Lebensmittelhyg.18, 1967, 27-30

- 124) Storgards, T.:

Betrachtungen über die Frage der
Qualität der direktgelieferten im
Verhältnis zur molkereibehandelten
Milch

Sv.Mejeritidn.47, 1955, 177-186
(schwedisch)

ref. Zschr.Lebensmittel-Unters.
104, 1956, 79

Meinem verehrten Lehrer,
Herrn Prof. Dr. H.-J. Sinell,
danke ich für die Überlassung
des Themas und die Förderung
dieser Arbeit.

Herrn Dr. R. Hamann, Leiter
des Laboratoriums der Meierei-
Zentrale Berlin, danke ich sehr
herzlich für seine mir jederzeit
gewährte Unterstützung.

Ebenso herzlich gilt mein Dank
Herrn Dr. G. Reuter.

Lebenslauf

Am 24. Mai 1935 wurde ich, Martin Rudolf Stephan, als Sohn des damaligen Steinarbeiters Martin Stephan und seiner Ehefrau Hildegard, geborene Kreische, in Wiesa bei Kamenz geboren. Von 1941 bis 1949 besuchte ich die Grundschule in Wiesa und von 1949 bis 1953 die Geschwister-Scholl-Oberschule in Nossen Kreis Meißen. Dort bestand ich im Juni 1953 das Abitur. Im September 1953 begann ich mit dem Studium der Landwirtschaft an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg in Halle. Dieses Studium beendete ich 1958 mit dem Diplom-Examen. Mit dem Wintersemester 1959/60 begann ich das Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin. Nach dem Sommersemester 1961 legte ich die tierärztliche Vorprüfung ab. Im Wintersemester 1962/63 und im Sommersemester 1963 studierte ich an der Tierärztlichen Hochschule in Wien. Danach kehrte ich nach Berlin zurück. Am 25. Juni 1965 beendete ich das Staatsexamen in Berlin. Zum 1. Januar 1966 erhielt ich die Approbation.

